

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie zu Graz.]

Ueber die Mischinfection bei Diphtherie.

Klinische und experimentelle Untersuchungen.

Von

Dr. **Jakob Bernheim** (aus Zürich),
Volontärarzt der Kinder-Klinik zu Graz.

Neben der Zahl und der Virulenz der specifischen Krankheitserreger beeinflussen namentlich zwei Factoren noch den Verlauf und die Intensität einer Infectionskrankheit: die Disposition des Erkrankten und die den eigentlichen Urheber des Krankheitsprocesses begleitenden Mikroorganismen. Das letztere Moment ist seit den Untersuchungen Roger's und Bouchard's bei einer Reihe von Infectionen sowohl durch klinische Beobachtungen als auch durch Thierexperimente genauer erforscht und als bedeutungsvoll erkannt worden.

Auf die Bedeutung der Mischinfection bei Diphtherie haben zuerst Roux und Yersin (1) hingewiesen. Der Umstand, dass sie immer neben dem Diphtheriebacillus den Streptokokken des Erysipels ähnliche Kettenkokken in den Membranen fanden, veranlasste sie, experimentell den Einfluss dieses Streptococcus auf die Diphtherieinfection beim Meerschweinchen zu prüfen. Es gelang ihnen, nachzuweisen, dass derselbe — was sie a priori vermutheten — die Virulenz des Diphtheriebacillus erhöht, indem sie durch gleichzeitige Infection mit hochvirulenten Erysipelkokken und schwachvirulenten Diphtheriebacillen bei Meerschweinchen eine acute, mit dem Tode endende Diphtherie erzeugten, während die mit den Diphtheriebacillen allein geimpften Thiere nur locales Oedem und geringe Nekrose zeigten.

Im Anschluss an dieses Experiment stellen sie die Hypothese auf, dass sehr wahrscheinlich auch andere Mundbakterien von Einfluss auf die Virulenz des Diphtheriebacillus sein könnten. Eigene Untersuchungen darüber haben sie jedoch nicht angestellt.

Gestützt auf das Resultat der erwähnten Mischinfectionen legte von Schreider (9) Mischculturen von Diphtheriebacillen und Erysipelkokken an. Die Prüfung der aus den Mischculturen und der aus den Reinculturen des Diphtheriebacillus durch Alkohol gefällten Toxalbumosen ergab eine bedeutend höhere Virulenz der ersteren.

Im Laufe dieses Jahres, nachdem ich meine eigenen Untersuchungen schon längere Zeit fortgeführt hatte, sind nun noch zwei weitere Arbeiten über dasselbe Thema veröffentlicht worden. In einer kurzen Mittheilung publicirt Mya (12) Versuche über Mischinfectionen, welche er mit folgenden drei Bakteriengemischen am Meerschweinchen ausgeführt hat:

1. Diphtheriebacillus und Streptococcus pyogenes,
2. " " Pneumococcus,
3. " " Staphylococcus pyogenes aureus.

Auch er machte die Beobachtung, dass die gleichzeitige Infection mit Diphtheriebacillen und Streptokokken für Meerschweinchen viel virulenter ist, als diejenige mit Diphtheriebacillen allein. Die Injection von Diphtheriebacillen und Staphylokokken führte zu einer Zunahme des fibrinösen Exsudates, die Allgemeinerscheinungen waren jedoch nicht von intensiverer Natur. Die Einimpfung des Pneumococcus zusammen mit dem Diphtheriebacillus hatte, abgesehen von einer Zunahme des localen Exsudates, eine viel reichlichere Speichelsepticämie als gewöhnlich zur Folge, während die mit Pneumokokken allein inficirten Thiere am Leben blieben. Wurden die Meerschweinchen vor der Infection mit Diphtheriebacillen mit Staphylokokken geimpft, so beobachtete Mya, dass der Tod viel später eintrat, oder dass die Thiere der Infection überhaupt nicht erlagen.

Ferner veröffentlichte vor Kurzem Funk (13) Mittheilungen über die Bedeutung der Streptokokkenmischinfection bei Diphtherie. Auf Grund sehr exacter Untersuchungen kommt er zu dem Resultat, dass die gleichzeitige Injection von Streptokokken auf die Diphtheriebacillen im Sinne gesteigerter Giftbildung einwirke, dass dieser Einfluss jedoch nicht so beträchtlich, wie die Autoren bisher angenommen; Infectionsversuche mit Diphtherietoxin und Streptokokken lehrten ihn, dass die gleichzeitige Streptokokkeninjection Meerschweinchen nicht empfänglicher macht für ein constantes Diphtheriegift.

Durch die Arbeiten von Roux und Yersin angeregt, untersuchte Barbier (4) in einer grösseren Zahl von Diphtheriefällen die den

Löffler'schen Bacillus begleitenden Mikroorganismen. Durch die Vergleichung der bakteriologischen Befunde mit dem klinischen Bilde gelangt er dazu, zwei grosse Gruppen von Diphtherieerkrankungen zu unterscheiden: Angine toxique diphthérique pure und Angine diphth. streptococcique. Der Verlauf der ersteren entspricht nach Barbier den Eigenschaften und den Wirkungen des Diphtheriebacillus allein, ohne Beimengung anderer Mikroben, derjenige der letzteren der sogenannten septischen Diphtherie. Barbier beschreibt drei den Diphtheriebacillus begleitende Kokken:¹

1. Streptococcus α ist kleiner als der gewöhnliche Kettencoccus; seine Ketten in Bouillon sind länger; er bildet in derselben kleine Flocken, ohne sie zu trüben. Barbier hält ihn für einen zufälligen Begleiter des Diphtheriebacillus.

2. Streptococcus β kommt bei bösartigen Diphtheriefällen vor. In Bouillon wächst er ähnlich wie α .

3. Micrococcus γ begleitet fast immer den Diphtheriebacillus, kommt aber auch bei croupösen Anginen neben Streptokokken vor. Er kommt bald als Monococcus, bald in kurzen Ketten bis zu fünf Gliedern vor. Auf Blutserum bildet er nach 24 Stunden bereits deutlich wahrnehmbare, denjenigen des Diphtheriebacillus nicht unähnliche Colonieen. Aehnliches Wachsthum auf Agar. Auf beiden Nährböden nimmt er bald eine gelbliche Farbe an. In Gelatine wächst er langsam, ohne Verflüssigung. Das klinische Bild, in welchem er neben dem Diphtheriebacillus gefunden wurde, ist nicht so bösartig, als dasjenige mit dem Streptococcus β .

Martin (10) gelangt auf Grund seiner am Hôpital des enfants malades angestellten Untersuchungen zu ähnlichen Resultaten wie Barbier. Auch er sucht den klinischen Verlauf ausschliesslich durch den bakteriologischen Befund zu erklären und unterscheidet eine Angine diphthérique pure und Angine diphthérique avec associations microbiennes, wobei die letztere in zwei Gruppen zerfällt, je nachdem Streptokokken oder Staphylokokken den Diphtheriebacillus begleiten. Die Mischinfection mit Streptokokken bietet eine sehr ungünstige Prognose, die Staphylokokken-Mischinfection verläuft meist gutartig.

In den erwähnten Publicationen sind einzelne Punkte, welche auch in den Bereich der vorliegenden Untersuchungen gezogen wurden, z. Th. schon ausführlich behandelt worden, so von Barbier die Mikroorganismen, welche neben dem Löffler'schen Bacillus in den diphtherischen Membranen vorkommen. Da aber schon die Untersuchung der ersten Membranen lehrte, dass der weitaus grösste Theil der secundären Bakterien aus

¹ Citirt nach dem Referat von Escherich im *Jahrbuch für Kinderheilkunde*.

Streptokokken, und zwar aus verschiedenen Varietäten, besteht, und da dieses Verhältniss auch von Barbier, welcher allein bisher eine Trennung der einzelnen Arten versuchte, nur in unvollständiger Weise berücksichtigt wurde, so war, um für das experimentelle Studium der Mischinfection eine sichere Grundlage zu gewinnen, in erster Linie eine nochmalige Untersuchung dieser Frage geboten.

Die beiden Streptokokken α und β unterscheiden sich in ihrem Wachsthum in Bouillon, durch welches nach den Forschungen Kurth's (6) und Lingelsheim's (7) allein eine genügend sichere Differenzirung gelingt, zu wenig, um als zwei verschiedene Streptokokkenarten erkannt zu werden.

An die erste Aufgabe dieser Arbeit, in einer Anzahl von Diphtheriefällen die Membranen, namentlich mit Berücksichtigung der Streptokokken, bakteriologisch zu untersuchen, schloss sich unmittelbar der zweite Theil derselben, welcher den bakteriologischen Befund mit dem klinischen Krankheitsbild in Vergleich ziehen sollte — ein Thema, welches ebenfalls schon von Barbier (4), später von Martin (10) behandelt worden ist. Es handelte sich dabei hauptsächlich darum, nachzuprüfen, ob eine so strenge Scheidung in reine Diphtherie und Diphtherie mit Streptokokken- oder Staphylokokkenmischinfection, wie sie Barbier und Martin vorgenommen haben, berechtigt ist.

Nachdem die verschiedenen secundären Bakterien genauer bekannt und reingezüchtet waren, wurde schliesslich der Einfluss ihrer Stoffwechselproducte auf das Wachsthum und die Virulenz der Diphtheriebacillen einerseits, und die Wirkung der Mischinfection auf Meerschweinchen andererseits untersucht.

Was diesen Theil der Untersuchungen anbetrifft, so sind bis auf Mya nur Mischinfectionen mit Streptokokken, und zwar ausschliesslich mit hochvirulenten Streptococcus pyogenes-, bzw. Erysipelatis-Arten vorgenommen worden. Mya untersuchte ausserdem noch die Wirkungen der Mischinfection mit Staphylococcus pyogenes aureus und dem Pneumococcus. Die vorliegenden Untersuchungen umfassen ausser den erwähnten noch die anderen Bakterienarten, welche aus den Diphtheriemembranen gezüchtet wurden. Dabei fanden diejenigen, welche am häufigsten und in der grössten Zahl gefunden wurden, die grösste Berücksichtigung.

Endlich ist noch zu betonen, dass nur aus den Membranen stammende Mikroorganismen zu den Mischinfectionen herbeigezogen wurden, und diese wieder möglichst in dem Zustande, in welchem sie aus den Membranen gewonnen wurden — das heisst, ohne künstliche Steigerung ihrer Virulenz. Bei einer Bakterienart, welche wie die Streptokokken, grosse Schwankungen nicht nur in der Virulenz, sondern z. Th. auch in

culturellen Eigenschaften zeigt, war wenigstens a priori anzunehmen, dass auch die Vereinigung mit dem Diphtheriebacillus nicht immer dieselbe Wirkung hervorruft. Inwieweit sich diese Voraussetzung erfüllte, werden die unten ausführlich wiedergegebenen Versuchsprotokolle zeigen.

I. Die Mikroorganismen der Diphtheriemembranen.

Zur Gewinnung von Reinculturen wurde stets in folgender Weise vorgegangen. Mit ausgeglühter Ohrenpincette wurde ein Stückchen der Rachenmembranen gefasst, und hierauf, um den anhaftenden Schleim zu entfernen, in sterilisirtem Wasser ausgeschüttelt. Sodann wurde in einer sterilen Schale mit ausgeglühten Pincetten und Glasstäbchen die Membran zerrissen und zerquetscht und durch Zusatz von sterilem Wasser eine mehr oder weniger concentrirte Aufschwemmung bereitet, je nach der Zahl der in den Membranen vorhandenen Mikroorganismen. Aus der Aufschwemmung wurden jedes Mal mit je einer Oese zwei Blutserum-Agarplatten, eine Agarplatte und zwei Gelatineplatten gegossen. Serum- und Agarplatten wurden im Brütöfen, die Gelatineplatten im Thermostaten gehalten. Die ersteren wurden nach 24 bis 48 Stunden, die Gelatineplatten nach 4 bis 5 Tagen untersucht und sogleich zur Gewinnung von Reinculturen verwendet, indem stets eine grössere Zahl von Colonieen in Bouillonröhrchen überimpft wurde.

A. Streptokokken.

Die kettenbildenden Kokken der Diphtheriemembranen sind schon öfters der Gegenstand bakteriologischer Untersuchungen gewesen; so wurden von Löffler (1), Barbier (4), Kurth (6), v. Lingelsheim (7) u. A. aus Diphtheriemembranen gezüchtete Streptokokken beschrieben. Eine Trennung der Kettenkokken bei Diphtherie in verschiedene Arten versuchte, wie oben erwähnt, nur Barbier, während die übrigen Autoren im Laufe andere Ziele verfolgender Untersuchungen sich einzelne Streptokokkenarten aus den Membranen herauszüchteten.

Bei der Gruppierung der von mir gezüchteten Kettenkokken habe ich mich aus praktischen Gründen an das Schema der Streptokokken gehalten, welches Behring (8) auf Grund der Untersuchungen v. Lingelsheim's und Kurth's aufgestellt hat. Nach Behring ist nur das Wachsthum in der Bouillon zur Differenzirung zu gebrauchen; Unterschiede, welche sich beim Wachsthum auf Gelatine oder Agar, bei verschiedenen Zusätzen zu den Nährböden u. s. w. ergeben, hält er nicht für genügend zuverlässig.

Da ich für das Studium der Symbiose und des Antagonismus einerseits, und dasjenige der Mischinfection andererseits hauptsächlich auf Bouillonculturen angewiesen war, so wandte ich diesen von Anfang an meine Aufmerksamkeit zu, legte aber auch meist Agarstrich- und Gelatinestichculturen an. Die ersteren sind zur Controle der Bouillonculturen nicht zu umgehen. Es zeigte sich nämlich wiederholt, dass ich auf der schiefen Agarfläche eine Mischcultur von zwei Streptokokken, einem *longus* und einem *brevis*, — meist waren nur wenige *Longus*colonieen zwischen den dichtgedrängten des *Strept. brevis* gelagert — vor mir hatte, trotzdem die Bouilloncultur von einer isolirten, kleinen Colonie der Serumagarplatte abgeimpft war. — Der Grund liegt wohl darin, dass bei dem dickerflüssigen, oft kleine Coagula geronnenen Serums enthaltenden Serumagar die Isolirung der einzelnen Diplokokken, welche selbst vielleicht noch durch Fibrinfäden zusammengehalten werden, schwerer gelingt, als bei dem dünnerflüssigen, einfachen Agar. — Wenn auch die Reinculturen auf Agarstrich keine zur Differentialdiagnose genügenden Unterschiede aufweisen, so liess doch eine Agarstrichcultur, welche mit einer Oese Bouilloncultur, die zwei verschiedene Streptokokken enthielt, angelegt worden, die Mischcultur erkennen in den Fällen, wo *Longus*colonieen sich in einer Bouilloncultur des *Streptococcus brevis* vorfanden. Nach 24 Stunden sind allerdings die Colonieen längs des Impfstriches noch alle gleich, sehr klein, kaum wahrzunehmen. Nach 3 bis 4 Tagen sieht man aber in der aus dicht an einander gelagerten *Brevis*colonieen gebildeten, grauen, transparenten Auflagerung einige grössere, hellgraue, undurchsichtige Colonieen. Die nachträgliche Controle der Bouillonculturen ergab dann auch, dass neben dem sandförmigen, locker zusammenhängenden Satz, welcher dem *Streptococcus brevis* entspricht, noch schleimige, fadenziehende Wolken sich am Boden der Eprouvette angesammelt hatten. — Die Gelatinestichculturen sind schon deshalb zu empfehlen, weil im Gelatinestich sich bekanntlich die Streptokokken am längsten lebensfähig erhalten. Eier- und Kartoffelculturen, welche eine Zeit lang angelegt wurden, bieten keine besonderen Vortheile. Eiculturen sind in doppelter Beziehung bemerkenswerth. Erstens erhalten sich auf ihnen die Streptokokken verhältnissmässig lange übertragbar, und zweitens gelang es mit ihnen, manchmal Streptokokken, welche die Bouillon intensiv trübten, in solche umzuzüchten, welche keine Trübung mehr erzeugten. Endlich wurden noch Milhculturen angelegt; auch diese sind nicht zur Differentialdiagnose zu gebrauchen, indem dieselbe Streptokokkenart die Milch fällen kann oder nicht. Auch die Säureproduction, bezw. der Grad derselben ist bei ein und derselben Streptokokkenart keine constante Grösse, und deshalb ebenfalls nicht zur Differenzirung zu verwerthen. Von einer genaueren Bestimmung der

Säureproduction wurde abgesehen, nachdem Versuche mit Lakmusmolke fehlgeschlagen hatten; auf den Grad derselben wurde aus der geringeren oder stärkeren Röthung des blauen Lakmuspapieres geschlossen. Da die Bouillon stets auf einen solchen Alkalescentzgrad eingestellt wurde, dass sie blaues Lakmuspapier nicht mehr röthete, gab diese Methode immerhin genügenden Aufschluss über die Säurebildung.

Die Bouillon wurde ohne Zuckerzusatz hergestellt; als feste Nährböden dienten erstarrtes Rinderblutserum; 2 Procent Agar mit Zusatz von 0.5 Procent Traubenzucker und 5 Procent Glycerin; 10 Procent und 15 Procent Gelatine mit 0.5 Procent Zuckerzusatz; gekochte Eier und Kartoffeln; als flüssige ausser der Bouillon noch Milch.

1. *Streptococcus brevis*

wurde unter 11 Fällen 8 Mal gefunden. Er unterscheidet sich wesentlich von dem *Strept. brevis*, welcher von Lingelsheim (7) beschrieben worden ist.

Auf Agarplatten stellen sich die tiefliegenden Colonieen dar als kleinste, grauweisse Pünktchen; auf Serumagarplatten finden sich neben den feinen Pünktchen auch noch grössere Colonieen. An der Oberfläche beider Nährböden bildet er flache, kreisrunde, sehr zarte Colonieen mit grauweissem Kern und grauer, transparenter Peripherie. Die tiefen Colonieen der Agarplatten, sowie der Kern der oberflächlichen erscheinen unter dem Mikroskop als länglichovale Körper mit unregelmässigen, oft eckig vorspringenden, aber scharfen Rändern. Sie sind feingekörnt und von gelbbrauner Farbe. Die Begrenzung der oberflächlichen Colonieen ist nicht scharf, die Peripherie löst sich in schlangenförmige, meist in der Richtung des Radius in den Agar vordringende Ketten auf. Da die langen Streptokokken bekanntlich sehr ähnliche Colonieen bilden, lassen sich die eben geschilderten Merkmale zur Diagnose nicht verwerthen. Werden Bouillonröhren mit diesen Colonieen geimpft, so erscheint die Bouillon nach 24 Stunden entweder gleichmässig getrübt, mit sandförmigem Satz am Boden, welcher beim Schütteln sich vollständig in der Bouillon auflöst, oder sie ist noch klar geblieben und zeigt einen spärlichen, schleimigen Bodensatz. Nach weiteren 24 Stunden tritt aber auch in den anfangs klar gebliebenen Röhren diffuse Trübung auf, der Satz am Boden hat sich etwas vermehrt, ist schleimig-sandförmig und löst sich beim Schütteln völlig in der Bouillon auf. Nach 1 bis 2 Wochen hat sich die Bouillon in allen Röhren wieder geklärt; die die Trübung hervorruhenden Stäubchen haben sich langsam zu Boden gesenkt. Die Reaction der Bouillon ist schon nach 24 Stunden amphoter geworden und zwar so, dass das blaue Lakmuspapier stärkere Röthung zeigt, als das rothe gebläut wird.

Die Colonieen der Agarplatte bestehen meist aus Diplokokken, diejenigen der Agarserumplatten, sowie der Bodensatz der Bouillon aus Diplokokken und kurzen Ketten; die letzteren überwiegen in der Bouillon. Die Form der Diplokokken ist häufig oval. — Wird von der Bouilloncultur eine Oese auf Agar gestrichen, so bildet sich in 24 Stunden eine kaum sichtbare, graue, durchscheinende Auflagerung, welche sich unter der Lupe als aus kleinsten, dicht aneinandergelagerten Tröpfchen zusammengesetzt erweist. Die Colonieen werden in der Folge nicht mehr grösser. Mit einer Oese Bouilloncultur geimpfte Milch zeigt nach 2 Tagen beginnende Gerinnung, nach 3 bis 4 Tagen ist dieselbe vollendet. Der *Streptococcus brevis* stirbt sehr rasch ab. Nach 3 bis 4 Tagen gelingt weder vom Agar, noch aus der Bouillon die Uebertragung; etwas länger hält er sich auf Eiern, wo er nach 6 bis 8 Tagen noch lebensfähig sein kann. Die Eicultur erscheint als sehr zarte, aus weissen Tröpfchen bestehende Auflagerung, die jedoch etwas üppiger ist, als die Agarstrichcultur, und mikroskopisch aus Kokken, Diplokokken und kurzen Reihen besteht. Wird vom Ei auf Bouillon geimpft, so kann diese nach 24 Stunden wieder dieselbe Trübung zeigen, wie die Ausgangscultur. In einigen Fällen jedoch war durch das Wachsthum auf dem Ei die Fähigkeit, die Bouillon zu trüben, verloren gegangen, die Bouillonculturen blieben dauernd klar; der Bodensatz war kleinflockig-schleimig geworden und löste sich beim Schütteln entweder völlig in der Bouillon auf, oder es blieben einzelne Flocken ungelöst. Auch die Säureproduction hatte sich geändert; die Reaction der Bouillon blieb alkalisch. Der Bodensatz zeigte längere Ketten, als in der sauren Bouillon. Wird von dieser Bouillon in Milch geimpft, so gerinnt dieselbe wieder in 3 bis 4 Tagen, trotzdem erstere alkalisch bleibt. Bringt man nun eine Oese voll Milhcultur in Bouillon, so zeigt diese nach 24 Stunden wieder Trübung und amphotere Reaction. Durch die Züchtung in der Milch hat der *Streptococcus* sowohl die Fähigkeit die Bouillon zu trüben als auch die stärkere Säureproduction wieder erlangt. Die Agarcultur der alkalischen Bouillon unterscheidet sich dadurch von der amphoteren, dass sich bei der ersteren von einander getrennte, viel weniger zahlreiche Colonieen bilden, welche dagegen einen grösseren Umfang erreichen; ein Umstand, welchen Lingelsheim für bedeutungslos hält und mit Recht zurückführt auf die Lagerung der Kokken in der Bouilloncultur. Das Aussehen dieser Colonieen entspricht demjenigen der oberflächlichen auf den Agar- und Agarserumplatten. Wird von der Bouilloncultur auf Kartoffeln geimpft, so findet man nach 6 bis 8 Tagen kleine, weisse Körnchen, welche aus Diplokokken und Kokken zusammengesetzt sind, die sehr häufig keulen- und bisquitförmige Degenerationsformen zeigen. — Im Gelatinestich kommt es nur zu

spärlichem Wachsthum in Form kleinster, weisser Pünktchen, welche sich nur wenig vergrössern. Häufig bleibt der Impfstich steril; auch auf der Kartoffel gelingt die Cultur nicht jedesmal. — Die Virulenzprüfungen wurden an weissen Mäusen vorgenommen; die Thiere bekamen 0.2 bis 0.5 ^{cem} 24 bis 48 Stunden alter Bouillonculturen unter die Rückenhaut injicirt, meist kam es zu keiner sichtlichen Erkrankung. Nur einmal führte die Injection von 0.2 ^{cem} einer 2 Tage alten Bouilloncultur¹ zu einer vorübergehenden Erkrankung. Die Maus war einige Tage matt, hatte verklebte Augen, erholte sich aber dann wieder. An der Injectionsstelle bildete sich ein kleiner Abscess, welcher sich in ein längere Zeit eiterndes, kleines Geschwür umwandelte.

Die Diphtheriemembranen, aus welchen der *Streptococcus brevis* gezüchtet wurde, zeigten mikroskopisch neben den Diphtheriebacillen Diplokokken, welche häufig von einem hellen Hof umgeben waren, niemals aber eine deutliche Kapsel besaßen.

Trotzdem unterliegt es wohl kaum einem Zweifel, dass der eben beschriebene, kurze *Streptococcus* nahe verwandt, wenn nicht identisch ist mit dem Fränkel'schen *Diplococcus pneumoniae*.

2. *Streptococcus longus*.

a) Die Bouillon trübende Formen wurden in 3 Fällen gefunden. Zu ihnen wurden nur diejenigen Formen gezählt, welche bei starker Trübung der Bouillon schleimig-fadenziehenden oder schleimig-flockigen Satz zeigten, der sich aus langen, bis über 100 Glieder zählenden, flach geschlängelten Ketten zusammensetzte. Die Trübung bestand aus feinsten Stäubchen und gröberen Flocken, und pflegte nach 1—2 Wochen zu schwinden, indem sich die Stäubchen und Flocken langsam zu Boden senkten.

Im Gelatinestich wachsen sie ähnlich, aber viel üppiger als der *Streptococcus brevis*. Auf Kartoffeln gehen sie in Form weisser Körnchen an, in welchen mikroskopisch viele stäbchen- und bisquitförmig aufgetriebene Kokken zu sehen sind. Auf Eiern gutes Wachsthum. Die Milch wurde von einzelnen hierher gehörenden Streptokokken schon nach 24 Stunden gefällt, andere wieder liessen sie flüssig. Bei einem aus dem Fall Rauch² gezüchteten, die Bouillon stark trübenden und die Milch fallenden *Streptococcus longus*, wurde dieselbe Veränderung nach der Züchtung auf Eiern beobachtet, wie sie beim *Streptococcus*

¹ Aus Fall Oswald, a. a. O.

² A. a. O.

brevis beschrieben worden ist. Die von den Eiern abstammenden Bouillon-culturen blieben klar und alkalisch; wurden mit denselben aber Milchröhren beschickt, so kam es in denselben wieder zur Gerinnung und die aus ihnen geimpften Bouillonröhren zeigten Trübung und amphotere Reaction. Eine zweite Uebertragung auf Eier hatte nicht mehr denselben Erfolg, indem jetzt auch die von ihnen abstammenden Bouillonröhren stets Trübung zeigten. Bei einem anderen die Bouillon stark trübenden *Streptococcus longus*, welcher die Milch nicht fällte, die Bouillon aber zu amphoterer Reaction brachte, hatte die Eicultur keinen Einfluss auf das Wachsthum in der Bouillon.

Worauf dieses Verhalten beruht, kann vorläufig nicht erklärt werden; weitere Untersuchungen in dieser Richtung werden noch angestellt werden.

Einer der Streptokokken dieser Gruppe erwies sich für Mäuse virulent. So ging eine mit dem Bodensatz einer 2 Tage alten Bouilloncultur (Fall Piateck) geimpfte Maus nach $1\frac{1}{2}$ Tagen zu Grunde. Im Herzblut, in Milz- und Lebersaft waren vereinzelte Colonieen des *Streptococcus* nachzuweisen. Aus einem zweiten Fall (Stuizer) stammende Streptokokken führten in Dosen von 0.1 und 0.2^{cem} zu einer vorübergehenden Erkrankung der Mäuse. Die Augen waren einen Tag lang verklebt, dann erholten sich die Thiere aber wieder. An der Impfstelle kam es zur Bildung eines Abscesses. Aus einem dritten Fall (Rauch) endlich führten 0.2^{cem} zu keiner Störung.

b) Die Bouillon nicht trübende Formen begleiteten am häufigsten den Diphtheriebacillus; sie wurden in 10 Fällen zum Theil in grösserer Zahl nachgewiesen. — In diese Gruppe gehörende Streptokokken sind von den Autoren meist als den Diphtheriebacillus begleitende Streptokokken beschrieben worden. So wuchsen die von Löffler (1) beschriebenen Kettenkokken als kleine, feingekräuselte Flöckchen in der sonst klaren Flüssigkeit; auch *Streptococcus* α und β von Barbier (4) und die von Lingelsheim (7) aus vier Diphtheriefällen gezüchteten Exemplare wuchsen ohne Trübung der Bouillon.

α) Mit schleimigem, weichem Bodensatz. Die Bouillon blieb meist völlig klar, indem die Streptokokken sich am Boden der Eprouvette als dicke, weisse Wolke ansammelten, oder es kam zu der Wachsthumform, wie sie Löffler beschrieben hat; die Flöckchen pflegten sich jedoch rasch zu Boden zu senken. In einzelnen Röhren trat am zweiten oder dritten Tag eine leichte diffuse Trübung auf, auch wenn sie von Culturen abstammten, welche die Bouillon klar gelassen hatten. Auf Agar und Eiern gingen sämmtliche Arten an, auf Kartoffeln zeigten einzelne kein Wachsthum. Die meisten wuchsen auch auf diesem Nährboden,

allerdings sehr langsam, erst nach 6 bis 8 Tagen waren kleine, weisse Körnchen bemerkbar, welche mikroskopisch die oben schon beschriebenen Degenerationsformen zeigten. Wurden davon Bouillonculturen angelegt, so zeigten diese wieder die typische Streptokokkenform. Die Milch brachten einzelne zur Gerinnung, andere nicht. Die Reaction der Bouillon wurde bald mehr, bald weniger geändert; es riefen auch solche Formen amphotere Reaction hervor, welche die Milch nicht fällten. Das mikroskopische Bild war stets das von Kurth (6) beschriebene. Kein einziger Streptococcus dieser Gruppe erwies sich als virulent; es wurden in 4 Fällen Mengen von 0.05 (aspirirter Bodensatz) bis 0.2^{ccm} weissen Mäusen subcutan injicirt, ohne dass dadurch ein Thier sichtlich erkrankte.

β) Streptokokken mit haut-, schuppen- oder bröckelförmigem Satz wurden in 6 Fällen gefunden. Diese von Kurth (6) zuerst beschriebene und scharf von den anderen Kettenkokken abgegrenzte Art wurde von dem genannten Autor ausschliesslich bei Scharlach gefunden. Lingelsheim (7) beobachtete bei seinen Streptokokkenuntersuchungen hier und da Wachsthum „in mehr oder weniger consistenten Flöckchen oder Bröckelchen, die auch bei stärkerem Schütteln nur wenig Neigung haben, sich zu zertheilen.“ Er fand diese „Neigung zur Bildung von Conglomeraten“ namentlich bei frisch aus dem Thierkörper gezüchteten Streptokokken. Endlich betont er, dass diese Eigenthümlichkeit ohne wesentliche Aenderung der sonstigen Beschaffenheit sich verlieren kann, und dass andererseits in manchen Culturen eine festere Vereinigung erst später eintritt. — Behring (8) führt als Fundort der Streptokokken, welche Schüppchen oder Bröckelchen bilden, die Scarlatina (Kurth) und einen schweren Fall von Pyämie an.

Ueber das Vorkommen von Conglomeratusformen bei Diphtherie ist, ausser durch die eben erwähnten Angaben Lingelsheim's, bis jetzt nichts bekannt geworden. Um so auffallender war es für mich, dass in einem so grossen Procentsatz der von mir untersuchten Fälle Streptokokken vorkamen, welche genau das von Kurth geschilderte, typische Wachsthum in der Bouillon zeigten. Die Haut war entweder schon nach 24 Stunden gebildet, und vergrösserte sich in den folgenden Tagen nur noch durch Dickenwachsthum, oder es fand sich 24 Stunden nach der Impfung am Boden der Eprouvette eine schleimige Wolke, welche sich aber jetzt schon von den Streptokokken der vorhergehenden Gruppe dadurch unterschied, dass sie stets ungleich cohärenter und zäher war, als der Bodensatz der letzteren und sich beim Schütteln nicht völlig zertrümmern liess, wobei es ausserdem nicht zu einer Trübung der Bouillon kam. Nach 48 Stunden hat die Consistenz des Satzes noch mehr zuge-

nommen, der Bodensatz bildet jetzt eine dicke, zottige Haut. — Wird von Bouillon auf Agar geimpft, so bilden sich, der unvollständigen Zerkümmerung entsprechend, meist nur vereinzelte Colonieen von verschiedener Grösse. Im Gelatinestich wächst der *Streptococcus conglomeratus* in Form isolirter, weisser Punkte; die von Kurth als charakteristisch bezeichnete Braunfärbung der Gelatine konnte ich nicht beobachten. Sehr häufig blieb der Impfstich steril, überhaupt war der *Streptococcus conglomeratus* sowohl auf Agar als auch auf Gelatine schwerer zum Wachsthum zu bringen, als die übrigen Gruppen des *Streptococcus longus*. — Auf Kartoffeln versagte die Cultur häufig; einige Male jedoch bildeten sich kleine weisse Körnchen, deren Consistenz etwas fester war, als diejenige der übrigen Longusarten. — Auf Eiern gedeiht der *Streptococcus conglomeratus* gut. — Die Milch brachten einzelne Arten zur Gerinnung, andere nicht. Die Reaction der Bouillon wurde nicht immer in demselben Grade geändert; bald kam es zu stärkerer, bald nur zu sehr geringer Säurebildung. — In der Virulenz unterschieden sich unsere Conglomeratusformen von denjenigen Kurth's in so weit, dass keine einzige derselben, auch wenn die ganze Haut injicirt wurde, weisse Mäuse tödtete; ja, es kam überhaupt niemals zu einer sichtlichen Erkrankung der Versuchsthiere. Da aber von den 5 von Kurth aus 4 Scharlachfällen gezüchteten Conglomeratusculturen sich eine weissen Mäusen gegenüber ebenfalls als völlig wirkungslos erwies, eine zweite nicht ausnahmslos tödtete, so bietet der Mangel der Virulenz keinen genügenden Grund, die eben beschriebenen Streptokokken vom *Streptococcus conglomeratus* Kurth's zu trennen.

B. Staphylokokken.

Die Staphylokokken traten, was die Zahl und die Häufigkeit ihres Vorkommens in den Diphtheriemembranen anbetrifft, weit hinter den Streptokokken zurück. Den überwiegenden Theil der Colonieen auf sämtlichen Platten bildeten Diphtheriebacillen und Streptokokken; nur vereinzelte Colonieen, meist auf den Gelatineplatten auftretend, waren von Staphylokokken gebildet. Es blieb dieses Verhältniss stets dasselbe, ob es sich um frisch gebildete oder schon ältere, mürbe Membranen handelte, ob die Membranen aus leichten oder schweren Diphtheriefällen stammten. Fälle, wie sie Martin (10) beschreibt, wo der Diphtheriebacillus nur von Staphylokokken begleitet war — der betreffende Coccus ist nicht genauer beschrieben — kamen mir nicht zur Beobachtung. Vielleicht tragen die verschiedenen Untersuchungsmethoden daran Schuld. Martin legte nie Platten an, sondern impfte stets direct aus dem Rachen auf schiefe Blutserumflächen.

Sämmtliche Staphylokokken verflüssigten die Gelatine.

Coccus a wurde in zwei Fällen gefunden.

Gelatinestich. 24 Stunden nach der Impfung findet man längs des Stiches weisse Punkte, welche in den nächsten Tagen zu einem zusammenhängenden Band confluiren. Vom 3. bis 4. Tage an beginnt sich die Gelatine am Eingang die Stichkanales cylinderförmig einzuziehen; nach 5—6 Tagen hat sich ein etwa 5^{mm} tiefer, streichholzdicker Verdunstungscylinder gebildet, dessen Wände mit weissen Colonieen ausgekleidet sind. Derselbe vergrössert sich in den folgenden Tagen sowohl im Breiten- wie im Tiefendurchmesser; zugleich entsteht an seinem unteren Ende ein anfangs schmaler Trichter verflüssigter Gelatine, in welchem feine Stäubchen suspendirt sind. Der Verflüssigungstrichter vergrössert sich langsam, so dass nach 5 Wochen die Gelatine zum grössten Theil verflüssigt ist. An der Oberfläche schwimmt dann ein dünnes, schleimiges, weisses Häutchen, während sich an der Spitze des Trichters körniger, weisser Satz angesammelt hat.

Im Agarstich Wachsthum längs des ganzen Impfstiches. An der Oberfläche bildet sich ein milchweisser Rasen, welcher später im Centrum einen gelblichen Ton annimmt und glatt bleibt. Auf schieferm Agar bildet sich eine 2—3^{mm} den Impfstrich überschreitende, lackartig glänzende, weisse Auflagerung, welche im Centrum bald gelbliche Verfärbung zeigt. Auf Kartoffeln wächst der *Coccus* als flache, trockene, schmutzig-graue Auflagerung; auf Eiern als dünner, glänzender, weisser Belag. Die Milch fällt er in 1—2 Tagen. Die Bouillon wird nach 24 Stunden intensiv getrübt; am Boden des Reagensglases findet sich anfangs wenig grauweisser Satz, welcher nach einer Woche schon einen dicken, schleimigen Faden bildet, der fest am Boden der Eprouvete haftet. Die Reaction der Bouillon bleibt alkalisch; der Alkalescenzgrad nimmt sogar zu. Die Trübung der Bouillon bleibt in den meisten Röhren bestehen.

In der Bouillon sind die Kokken meist zu zweien gelagert, in der Gelatine, auf Eiern, Kartoffeln und Agar in Haufen. Die Virulenz wurde nicht geprüft.

Coccus b (*Staphylococcus pyogenes albus*?) wurde einmal gefunden.

Gelatinestich (15 proc. Gelatine). Nach 24 Stunden findet man ein weisses Band längs des Impfstiches; nach 48 Stunden beginnt das obere Ende sich trichterförmig einzuziehen; in den folgenden Tagen bildet sich unter dem Verdunstungstrichter ein anfangs zündholzdicker Verflüssigungscylinder, welcher rasch sowohl in die Breite als in die Tiefe wächst, so dass nach 7 Tagen ein dicker Strumpf verflüssigter Gelatine sich bis zum Boden der Eprouvete erstreckt. Die verflüssigte Gelatine

ist stark getrübt, an der Oberfläche derselben schwimmt ein dünnes, weisses Häutchen; am Boden sammelt sich körniger, weisser Satz an. Nach 9 Tagen ist die Gelatine völlig verflüssigt.

Die Agarstrichcultur besteht aus einer milchweissen, nach 24 Stunden den Impfstrich $\frac{1}{2}$ mm überschreitenden, lackartig glänzenden Auflagerung, welche breiter wird und nach 2—3 Wochen trockene Oberfläche zeigt mit reinweissem Centrum und grauweisser Peripherie. Auf der Kartoffel bildet der Coccus anfangs eine reinweisse, später schmutzigweisse, trockene Auflagerung. Die Milch wird von ihm in 48 Stunden vollständig gefällt. In der Bouillon wächst er mit starker Trübung und Bildung eines weissen, schleimig-flockigen Satzes. Die Bouilloncultur zeigt amphotere Reaction, bläut aber rothes Lakmuspapier stärker. Die Virulenz wurde nicht geprüft.

Coccus c umfasst eine Gruppe von Staphylokokken, welche alle die Gelatine langsamer verflüssigen, als die vorhergehenden. Sie selbst unterscheiden sich nur darin von einander, dass die Verflüssigung bei den einen etwas langsamer vorwärts schreitet und auch später eintritt, als bei den anderen. Dagegen vermögen alle nicht, die Milch zur Gerinnung zu bringen; alle wachsen sehr schlecht und sehr langsam auf Kartoffeln; bilden im Agarstich an der Oberfläche einen grauweissen Rasen, welcher später körnig wird, und wachsen nur in der oberen Hälfte des Impfstiches, zeichnen sich also durch ein gewisses Luftbedürfniss aus. — Sie wurden in 3 Fällen gefunden.

Gelatinestich. 24 Stunden nach der Impfung findet man ein weisses Band längs des Stiches; vom 2. bis 3. Tage an bildet sich ein wenige Millimeter tiefer, streichholzdicker Verdunstungscylinder, dessen Wände, namentlich bei langsamer Verdunstung, anfangs vollständig von weissen Colonieen ausgekleidet sind. Unterhalb des Cylinders kommt es in dem einen Falle schneller, im anderen etwas langsamer zur Bildung eines schmalen Trichters verflüssigter Gelatine, in welcher theils feinste Stäubchen, theils grössere, weisse Körnchen suspendirt sind. Am Boden dieses Trichters sammelt sich gelbweisser, körniger Satz an, während an der Oberfläche eine weisse, schleimige Haut schwimmt. Nach 4 Monaten hat die Verflüssigung noch nicht den Boden des Reagensglases erreicht.

Agarstich. An der Oberfläche weisser, feuchtglänzender Rasen, im Impfstich Wachsthum nur in der oberen Hälfte. Nach einigen Wochen zeigt der Rasen Körnung.

Agarstrich. Nach 24 Stunden bläulichweisses, lackartig glänzendes, 1—2 mm den Impfstrich überschreitendes Band, dessen Oberfläche später Körnung zeigt.

Auf der Kartoffel kam es im Brütofen zu keinem Wachsthum; im Thermostaten traten nach $1\frac{1}{2}$ Wochen kleine, etwas über stecknadelknopfgrosse, weisse Körnchen auf. Die Milch gerinnt nicht. Auf Eiern gedeiht der Coccus gut in Form einer weissen Auflagerung. Die Bouillon ist nach 24 Stunden mehr oder weniger getrübt, am Boden der Eprouvette findet sich anfangs bald lockerer, bald fadenziehender Satz; nach 1 bis 2 Wochen bildet er stets einen dicken, schleimigen Faden. Die Bouillon klärt sich in einem Theil der Röhren wieder, in einem anderen bleibt sie trüb. Die Virulenz wurde an der Kaninchenhornhaut geprüft. Durch Infection mit einer kleinen Menge einer Agarstrichcultur kommt es zur Bildung einer Hornhautpustel mit Reizung der Iris, Schwellung der Lider und schleimig-eitriger Secretion der Conjunctiva.

Nahe verwandt mit dieser Gruppe sind zwei Staphylokokken (c'), welche sich aber darin von den vorhergehenden unterscheiden, dass sie 1. die Milch fällen, der erste in 4 bis 6, der zweite in 14 Tagen; 2. die Bouillon anfangs klar lassen unter Bildung eines dicken, schleimigen Fadens, welcher dem Boden der Eprouvette anklebt. Nach einigen Tagen kommt es auch hier zur Trübung der Bouillon.

In einem Fall von septischer Diphtherie fanden sich auf der Gelatineplatte vereinzelte Colonieen eines Diplococcus (d), welcher nur bei Zimmertemperatur oder im Thermostaten gedeiht. Er wächst auf der Gelatine unter sehr langsamer Verflüssigung; im Agarstich nur in der oberen Hälfte des Impfstiches, auf der Oberfläche bildet er einen schmutziggrauen Rasen; auf Eiern wächst er gut, auf Kartoffeln schlecht als gelbweisse, schleimige Auflagerung. In der Bouillon wächst er unter Trübung und Bildung einer dicken, graugelben Haut. In der Bouillon ist er meist als Diplococcus, seltener in kurzen Reihen gelagert; auf festen Nährböden in Haufen, doch auch als Diplococcus und in kurzen Reihen. Für weisse Mäuse ist er nicht virulent.

Endlich sind noch einige Sarcineformen zu erwähnen, welche ganz vereinzelt sich auf wenigen Platten vorfinden.

C. Bacillen.

Neben dem Diphtheriebacillus, über dessen Virulenz der folgende Abschnitt zu vergleichen ist, wurde in einem Falle noch der Pseudodiphtheriebacillus gefunden, welcher sich namentlich durch sein ungleich üppigeres Wachsthum auf Agar und Gelatine und den völligen Mangel der Virulenz vom Löffler'schen Bacillus unterschied.

II. Beschreibung der untersuchten Fälle.

Von den auf die Diphtherieabtheilung des Grazer Anna-Kinderspitals aufgenommenen Kindern wurden von Mitte Januar 1894 bis Mitte Juni 1894 12 theils leichte, theils schwere Fälle zur bakteriologischen Untersuchung herangezogen. In 11 Fällen handelte es sich um echte Diphtherie, im 12. Falle um eine durch Streptokokken hervorgerufene diphtherieähnliche Angina. Von den 11 Diphtheriepatienten starben 3, einer davon an septischer Diphtherie. Tracheotomirt wurden 6, geheilt davon 4.

Um den Virulenzgrad der Diphtheriebacillen zu bestimmen, wurde stets die Methode angewendet, welche von Klemensiewicz und Escherich (5) angegeben worden ist. Nach ihren Untersuchungen ist das Verhältniss der injicirten Bouillonmenge, welche in 3 bis 4 Tagen sicher den Tod herbeiführt, zu dem Körpergewicht des inficirten Thieres ein guter Maassstab zur Bestimmung des Virulenzgrades. Je geringer bei gleichem Gewichte der Thiere die Menge der 24 Stunden alten Bouilloncultur ist, um so höher ist die Virulenz der Bacillen. Ein starker Virulenzgrad kann dann angenommen werden, wenn 0·05 Procent des Körpergewichtes oder eine noch geringere Menge der Bouilloncultur genügt, um ein Meer-schweinchen in der erwähnten Zeit zu tödten.

1. Marie Piateck; 2 Jahre alt.

Aufnahme: 11./I. 94. Entlassung: 9./II. 94. Ist seit 12 Stunden krank.

a) Fieber: am 11./I. 94 bis 38·7, von da an fieberfrei. b) Harn stets eiweissfrei. c) Submaxillardrüsen: etwas geschwollen. d) Nase: frei. e) Kehlkopf: frei. f) Lungen: frei.

g) Rachen: kein Schluckweh.

Am 12./I. 94. Rachen dunkel geröthet, Tonsillen nur wenig geschwollen; auf denselben disseminirte, milien- bis linsengrosse Beläge von grauweisser Farbe, ziemlich fest haftend, wenig erhaben. Uvula, Epiglottis und hintere Rachenwand frei.

Am 15./I. 94. Seit zwei Tagen kleine, weissliche Auflagerungen auf Gaumenbogen und Uvula.

Am 23./I. 94. Seit zwei Tagen keine Beläge, heute ein neuer auf der rechten Tonsille.

Am 27./I. 94. Kein Belag.

Am 31./I. 94. Auf der linken Tonsille eine Anzahl neuer, kleiner, weisser Auflagerungen.

Am 8./II. 94. Der letzte Rest von Belägen geschwunden.

Mikroskopischer Befund. Am 12./I. 94. Diphtheriebacillen zahlreich, stark überwiegend; wenige Diplokokken und in Haufen gelagerte Kokken.

Am 15./I. 94. Diphtheriebacillen mässig zahlreich, überwiegend; vereinzelte Diplokokken.

Am 23./I. 94. Diphtheriebacillen sehr zahlreich, Kokken und Diplokokken ebenfalls.

Am 31./I. 94. Diphtheriebacillen, Kokken und Diplokokken in grosser Zahl.

Bakteriologischer Befund.¹ Am 12./I. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Neben sehr zahlreichen Colonieen von D. B. reichliche von Streptokokken; meist Str. l. b., wenige Str. br., Str. l. a. und Str. congl.

Gelatineplatten: Coccus c, auf jeder Platte 2 bis 3 Colonieen, daneben zahlreiche, kleinste, punktförmige Colonieen, welche nicht untersucht wurden.

Am 15./I. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Keine Str. br., sonst wie am 12./I. 94.

Am 23./I. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Keine Str. congl., sonst wie am 12./I. 94.

Am 31./I. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Massenhaft Colon. von D. B. Die Streptokokkencolonieen wurden nicht untersucht.

Virulenzprüfung.

Herkunft der Cultur	Nummer	Gewicht	Menge der injicirten Bouilloncultur		Erfolg der Infection
			in Procent	in ccm	
12./I. 94	1	598	0.05	0.3	† nach 2 Tagen.
15./I. 94	2 a	493	0.05	0.25	† „ 25 „
15./I. 94	2 b	325	0.05	0.16	† „ 24 Stunden.
23./I. 94	3 a	367	0.05	0.18	† „ 2 1/2 Tagen.
23./I. 94	3 b	303	0.05	0.15	† „ 2 1/2 „
23./I. 94	3 c	335	0.05	0.17	Nekrose, starke Abmagerung
31./I. 94	4 a	365	0.05	0.18	„ „ „
31./I. 94	4 b	450	0.1	0.45	† nach 2 1/2 Tagen.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit stark und schwach virulenten Diphtheriebacillen.

2. Franz Sklenar; 6³/₄ Jahre alt.

Aufnahme 15./II. 94. † am 18./II. 94. Vor 6 Tagen mit Husten erkrankt.

a) Fieber: andauernd über 39.0°; am 17. und 18. sinkende Temperatur. b) Harn: enthält Eiweiss. c) Submaxillardrüsen: ziemlich geschwollen. d) Nase: ? e) Kehlkopf: Stenose, Intubation und Tracheotomie. f) Lungen: Anfangs frei; am 18./II. Ronchi. g) Rachen: kein Schluckweh; starke Röthung und Schwellung; am 16./II. kleine Beläge.

Zur Untersuchung gelangt eine bei der Intubation ausgehustete Membran.

¹ Die hier angewendeten Abkürzungen bedeuten: D. B. = Diphtheriebacillus. Str. br. = Streptococcus brevis. Str. l. a. = Streptococcus longus mit Trübung der Bouillon. Str. l. b. = Streptococcus longus ohne Trübung der Bouillon. Str. congl. = Streptococcus conglomeratus.

Mikroskopischer Befund. Sehr wenig Mikroorganismen; meist D.B.; ganz vereinzelte Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Serum-Agarplatten und Agarplatten: wenig D. B., sehr wenig Str. l. b. Gelatineplatten: Nur Colonieen von D. B. und Str.

Virulenzprüfung. Ein 413 ^{grm} schweres Meerschweinchen erhält 0.05 Procent Diphtheriecultur. Bleibt am Leben. An der Impfstelle kommt es zur Infiltration und Nekrose; starke Abmagerung.

Sectionsbefund. Laryngitis, Tracheitis, Bronchitis crouposa. (Prof. Eppinger.)

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit schwach virulenten Diphtheriebacillen.

3. Anna Oswald, 10 Jahre alt.

Aufnahme 25./II. 94. Entlassung 18./III. 94. Vor 3 Tagen erkrankt.

a) Fieber: am 25. und 26. bis 38.4; sonst fieberfrei. b) Harn: Anfangs eiweissfrei; enthält Eiweiss vom 10./III. bis 13./III. 94. c) Submaxillardrüsen: ganz wenig vergrössert. d) Nase: frei. e) Kehlkopf: Stenose. Tracheotomie. f) Lunge: normal.

g) Rachen: Schluckweh.

Am 26./II. 94. Rachengebilde stark geröthet und mässig geschwollen. Auf Tonsillen, Uvula, hinterer Rachenwand und Spitze der Epiglottis weisse, leicht erhabene, zerstreute kleinere Beläge, welche sich unschwer ablösen lassen.

Am 1./III. 94. Die Beläge haben sich stark verringert, lassen sich leicht mit der Pincette ablösen.

Am 3./III. 94. Seit gestern wieder neue Auflagerungen.

Mikroskopischer Befund. Am 26./II. 94. Neben sehr zahlreichen D. B., in etwas geringerer Anzahl Diplokokken.

Am 1./III. 94. Wie am 26./II., doch sind die Diplokokken viel zahlreicher.

Am 3./III. 94. Meist D. B.; daneben grössere und kleinere Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Am 26./II. 94 Serum-Agarplatten und Agarplatten: Fast ausschliesslich D. B., viel weniger Str. br. Gelatineplatten: Neben sehr zahlreichen D. B. viele Str. br.

Am 1./III. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Fast ausschliesslich D. B., daneben Str. br. Gelatineplatten: Wie am 26./II. 94.

Am 3./III. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Meist D. B., viele Str. br., vereinzelte Str. congl. und Str. l. b.

Virulenzprüfung. Ein Meerschweinchen von 581 ^{grm} erhält 0.05 Proc. einer Diphtheriecultur vom 26./II. 94. † nach 2 Tagen.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit stark virulenten D. B.

4. Mathilde Fromm, 10 Jahre alt.

Aufnahme 4./III. 94. Entlassung 24./III. 94. Vor 7 Tagen erkrankt.

a) Fieber: remittirend vom 4. bis 11./III. 94; höchste Temperatur 40.0. b) Harn: enthält Eiweiss bis zur Entlassung. c) Submaxillar-

drüsen: leicht geschwollen. d) Nase: frei. e) Kehlkopf: Stenose. Tracheotomie; hustet eine 6^{cm} lange nach unten verzweigte Trachealmembran aus. f) Lunge: geringer Bronchokatarrh.

g) Rachen: kein Schluckweh.

Am 5./III. 94. Schleimhaut intensiv geröthet, mässig geschwollen. Zusammenhängende, festsitzende, ziemlich dünne, weisse Auflagerungen auf beiden Tonsillen, Uvula, hinterer Rachenwand und Epiglottis.

Am 7./III. 94. Beläge dicker, an Ausdehnung jedoch geringer.

Mikroskopischer Befund. Am 5./III. 94. Massenhaft D. B., vereinzelte Diplokokken, hier und da in kurzen Reihen.

Am 7./III. 94. Nur vereinzelte D. B.; viel zahlreichere Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Am 5./III. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Fast ausschliesslich D. B., vereinzelte Colonieen von Str. l. b. und Pseudodiphtheriebacillen. Gelatineplatten: meist D. B., wenige Str. l. b.

Am 7./III. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Sehr vereinzelte D. B., viele Str. l. b., daneben eine Sarcinecolonie.

Virulenzprüfung. Ein Meerschweinchen von 485 g^{rm} erhält 0.05 Proc. Diphtheriecultur. Bleibt am Leben. An der Impfstelle Infiltration und Nekrose.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit schwachvirulenten Diphtheriebacillen.

5. Marie Stuiser, 5 Jahre alt.

Aufnahme 16./III. 94. † 6./IV. 94. Vor 3 Tagen erkrankt.

a) Fieber: anhaltend hoch, mit täglichen Remissionen. b) Harn: enthält Eiweiss bis zum 31./III. c) Submaxillardrüsen nicht vergrössert. d) Nase: Eingang leicht excoriirt, mit Borken bedeckt. e) Kehlkopf: Stenose. Tracheotomie; hustet bis 4^{cm} lange Membranen aus. Das Kind verschluckt sich viel. f) Lungen: Anfangs Bronchokatarrh, später links hinten Bronchopneumonie und diffuse Bronchitis beiderseits.

g) Rachen: kein Schluckweh.

Am 17./III. 94. Die Rachenorgane stark geröthet, mässig geschwollen. Auf beiden Tonsillen und an der hinteren Rachenwand kleine, weisse Beläge.

Am 20./III. 94. Beläge kleiner geworden.

Mikroskopischer Befund. Am 17./III. 94. Wenige D. B.; meist Diplokokken. Am 20./III. 94. Wenige D. B.; meist Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Am 17./III. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Fast ausschliesslich D. B., vereinzelte Str. l. a. und Sarcine. Gelatineplatten: Meist D. B., daneben aber zahlreiche Str. l. a. und Str. l. b., vereinzelte Sarcinen.

Am 20./III. 94. Serum-Agarplatten: Meist D. B., daneben Str. l. a. Gelatineplatten: Meist Str. l. a., vereinzelte Colonieen von Coccus a.

Virulenzprüfung. Ein Meerschweinchen von 321 g^{rm} erhält 0.05 Proc. Diphtheriecultur; † nach 3½ Tagen.

Sectionsbefund. Pneumonia lobularis necroticans pulm. utriusque. Diphth. peracta. (Prof. Eppinger.)

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit stark virulenten D. B.

6. Marie Olbel, 5 $\frac{1}{2}$ Jahre alt.

Aufnahme 23./III. 94. Entlassung 13./IV. 94. Vor 7 Tagen erkrankt.

a) Fieber: vom 23.—25./III. bis 38·6; von da an fieberfrei. b) Harn: enthält Eiweiss vom 23.—25./III. c) Submaxillardrüsen: beträchtlich geschwollen. d) Nase: leichter Schnupfen. e) Kehlkopf: Stenose. Tracheotomie. f) Lungen: leichter Bronchokatarrh.

g) Rachen: kein Schluckweh.

Am 24./III. 94. Rachengebilde stark geröthet, mässig geschwollen. Auf beiden Tonsillen und der hinteren Rachenwand linsengrosse, scharf abgegrenzte Beläge, welche sich schwer und nur unter Blutung ablösen lassen.

Mikroskopischer Befund. Am 24./III. 94. Sehr wenig Mikroorganismen, meist D. B., spärliche Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Am 24./III. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Wenig Colonieen; meist D. B.; daneben Str. l. b., wenige Str. congl. und Str. br., eine Sarcine. Gelatineplatten: Meist D. B. und Str. l. b., einige Coccus a, und eine Sarcine.

Virulenzprüfung. 1. Ein Meerschweinchen von 371 grm erhält 0·1 Procent einer Diphth.-Cultur. † nach 7 $\frac{1}{2}$ Tagen. 2. Ein Meerschweinchen von 470 grm erhält 0·1 Procent einer Diphth.-Cultur. † nach 1 $\frac{1}{2}$ Tagen.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit mässig und schwach virulenten Diphth.-Bacillen.

7. Robert Grasmuck, 5 $\frac{1}{2}$ Jahre alt.

Aufnahme 3./IV. 94. Entlassung 22./IV. 94. Vor 2 Tagen erkrankt.

a) Fieber: vom 3. bis 7./IV. 94 höchste Temperatur 39·8. b) Harn: enthält Eiweiss vom 5. bis 8./IV. 94. c) Submaxillardrüsen: vergrössert. d) Nase: frei. e) Kehlkopf: Stenose. Intubation und Tracheotomie. f) Lungen: normal.

g) Rachen: Schluckweh.

Am 4./IV. 94. Tonsillen und Uvula mächtig geschwollen, stark geröthet. Ausgedehnte, weisse Auflagerungen auf Uvula, beiden Tonsillen, hinterer Rachenwand und Spitze der Epiglottis. Lassen sich leicht ablösen.

Am 6./IV. 94. Auflagerungen etwas kleiner geworden.

Am 10./IV. 94. Keine Beläge mehr.

Am 15./IV. 94. Auf der rechten Tonsille heute eine Reihe lacunärer, weisslichgelber Pfröpfe, welche sich leicht ablösen lassen.

Mikroskopischer Befund. Am 4./IV. 94. Wenig Mikroorganismen, meist D. B., sehr wenige Diplokokken.

Am 6./VI. 94. In grösserer Menge Diplokokken, keine sicheren D. B.

Am 15./IV. 94. Wenig Bakterien, meist D. B.

Bakteriologischer Befund. Am 4./IV. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Nur vereinzelte D. B., meist Str. congl., wenig Str. br. Gelatineplatten: Meist D. B., wenig Str. congl.

Am 6./IV. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Keine D. B., meist Str. congl., wenige Str. l. b. und Str. br. Gelatineplatten: Str. congl. und Coccus a und c.

Am 16./IV. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Zahlreiche D. B., ebenso zahlreich Str. l. b. und Str. br., weniger Str. congl. Gelatineplatten: Meist D., weniger Str.

Virulenzprüfung. 1. Ein Meerschweinchen von 400 ^{grm} erhält 0·05 Procent Diphtheriecultur (vom 4./IV.), bleibt am Leben, an der Impfstelle Infiltration und Nekrose. 2. Ein Meerschweinchen von 285 ^{grm} erhält 0·05 Procent Diphth.-Cultur (vom 16./IV.), † nach 8 Tagen.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit schwach und mässig virulenten D. B.

8. Julianne Sauser, 4¹/₄ Jahre alt.

Aufnahme 4./IV. 94. Entlassung 25./IV. 94. Seit 8 Tagen Diphtherie der Vulva, Beginn der Rachendiphtherie nicht zu eruiren.

a) Fieber: am 4., 7., 8., 9., 11., 16./IV. bis 38·7; sonst fieberfrei.
b) Harn: eiweissfrei. c) Submaxillardrüsen: geschwollen. d) Nase: frei. e) Kehlkopf: frei. f) Lungen: frei.
g) Rachen: kein Schluckweh.

Am 5./IV. 94. Rachengebilde stark geschwollen und geröthet; auf beiden Tonsillen, der Uvula, der hinteren Rachenwand dicke, weisse Auflagerungen, welche sich leicht, aber unter Blutung ablösen lassen.

Am 7./IV. 94. Beläge, Schwellung und Röthung bedeutend zurückgegangen.

Am 14./IV. 94. Auf beiden Tonsillen und der Uvula neue grössere und kleinere, weissliche Auflagerungen; starke Röthung der Schleimhaut.

Mikroskopischer Befund. Am 5./IV. 94. Wenig Mikroorganismen; vereinzelte D. B. und Diplokokken.

Am 7./IV. 94. Neben mässig zahlreichen D. B. zahlreiche Diplokokken; ausser den D. B. noch andere Stäbchen.

Am 14./IV. 94. Wenig Mikroorganismen, meist D. B., daneben Kokken und Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Am 5./IV. 1894. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Nur vereinzelte D. B., meist Str. br., wenige Str. l. b. Gelatineplatten: Meist Str. br., wenige Str. congl. und Str. l. b.

Am 7./IV. 1894. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Zahlreiche D. B. und Str. br., wenige Str. l. b. Gelatineplatten: Zahlreiche D. B. und Str. br., wenige Str. l. b.

Am 14./IV. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Zahlreiche D. B. und Str. br., weniger Str. l. b. Gelatineplatten: Zahlreiche D. B., viele Str. br., wenige Str. l. b. und vereinzelte Coccus c und c'.

Virulenzprüfung. 1. Ein Meerschweinchen von 582 ^{grm} erhält 0·05 Procent einer Diphth.-Cultur (vom 5./IV.) † nach 9¹/₂ Tagen. 2. Ein Meerschweinchen von 382 ^{grm} erhält 0·05 Procent einer Diphth.-Cultur (vom 14./IV.) † nach 2 Tagen. 3. Ein Meerschweinchen von 425 ^{grm} erhält 0·1 Procent einer Diphth.-Cultur (Vulva) † nach 1¹/₂ Tagen.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit mässig und stark virulenten D. B.

9. Josephine Endt, 7 Jahre alt.

Aufnahme. 9./IV. 94. † 13./IV. 94. Vor 2 Tagen erkrankt.

a) Fieber: andauernd über 38·0° bis 39·7°. b) Harn: stark eiweissaltig. c) Submaxillardrüsen: ganz bedeutend vergrössert. d) Nase:

blutig-seröser Ausfluss. e) Kehlkopf:? f) Lungen: vereinzelte trockene Ronchi.

g) Rachen: starke Schluckschmerzen.

Am 10./IV. 94. Tonsillen und Uvula hochgradig geschwollen, continuirliche, dicke, grauweisse, fetzige Auflagerungen auf dem ganzen weichen Gaumen, stellenweise braunschwärzlich verfärbt. Die Schleimhaut von zahlreichen punktförmigen und streifigen Blutungen durchsetzt. — Foetor ex ore.

Die Auflagerungen lassen sich in grossen Fetzen ablösen, darunter starke Blutung.

Am 12./IV. 94. Die Beläge überall missfarben, schmutzigbraun, theils von Hämorrhagien durchsetzt. Scheusslicher Foetor.

Mikroskopischer Befund. Am 10./IV. 94. Neben zahlreichen D.B. noch häufiger Diplokokken verschiedener Grösse; zahlreiche Kokken in Haufen.

Am 12./IV. 94. Nur vereinzelte D.B., massenhaft Kokken, daneben häufig schlanke Stäbchen.

Bakteriologischer Befund. Massenhafte Colonieen; die gewöhnlichen Verdünnungen genügen nicht zur Isolirung.

Am 10./IV. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Nur vereinzelte D.B., massenhaft Colonieen von Str. br., weniger Str. l. b. Gelatineplatten: Wenige Str.br. und Coccus d.

Am 12./IV. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Sehr vereinzelte D.B., massenhaft Colonieen von Str. br., weniger Str. l. b. Gelatineplatten: 3 Colonieen Str. br., eine Colonie Coccus c.

Virulenzprüfung. Ein Meerschweinchen von 472 ^g erhält 0.05 Procent einer Diphth.-Cultur. † nach 2½ Tagen.

Sectionsbefund (Prof. Eppinger). Pharyngitis, Laryngitis, Tracheitis necroticans et crouposa. — Pneumonia haemorrhagica. — Degenerat. adip. cordis. Haemorrh. multipl. pleurar. et mucos. intest. — Gastritis crouposa.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit stark virulenten D.B. Secundäre Streptokokkeninfection.

10. Therese Rauch; 2½ Jahre alt.

Aufnahme 15./V. 94. Entlassung 26./V. 94. Vor 4 Tagen erkrankt.

a) Fieber: am 15./V., sonst fieberfrei. b) Urin: eiweissfrei. c) Submaxillardrüsen: beträchtlich vergrössert. d) Nase:? e) Kehlkopf: bellender Husten; ziehende Inspiration. f) Lungen: leichter Bronchocatharrh. g) Rachen: geringe Schluckbeschwerden.

Am 15./V. 94. Rachenorgane stark geröthet, wenig geschwollen; auf beiden Tonsillen disseminirte Beläge.

Mikroskopischer Befund. Am 15./V. 94. Neben zahlreichen D.B. vereinzelte Diplokokken, seltener Kokken in Haufen.

Bakteriologischer Befund. Am 15./V. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Zahlreiche D.B., daneben Str. l. a. und Str. br. in grösserer Menge, wenige Str.congl. Gelatineplatten: Meist Str.l.a. und Str.br., wenige Str.congl., 2 Colonieen von Coccus b.

Virulenzprüfung. Ein Meerschweinchen von 348 ^{erm} erhält 0.05 Procent einer Diphth.-Cultur. † nach 3 Tagen.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit mässig virulenten D. B.

11. Marie König, 7 Jahre alt.

Aufnahme 4./VI. 94. Entlassung 13./VI. 94. Vor 3 Tagen erkrankt.

a) Fieber: frei. b) Harn: enthält vorübergehend Eiweiss. c) Submaxillardrüsen: wenig geschwollen. d) Nase: frei. e) Kehlkopf: frei. f) Lungen: frei.

g) Rachen: Schluckweh.

Am 4./VI. 94. Rachenorgane stark geröthet, wenig geschwollen. Auf beiden Tonsillen und Uvula gelblichweisse, etwas schmierige Auflagerungen.

Mikroskopischer Befund. Am 4./VI. 94. Neben sehr zahlreichen D. B., sehr reichlich Colonieen von Kokken und Diplokokken.

Bakteriologischer Befund. Am 4./VI. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Meist D. B., viel weniger Str. br. und Str. l. b. Gelatineplatten: Meist D. B., weniger Str. und Str. l. b.

Virulenzprüfung. 1. Ein Meerschweinchen von 348 ^{erm} erhält 0.05 Procent Diphth.-Cultur; bleibt am Leben; an der Impfstelle Infiltration und Nekrose. 2. Ein Meerschweinchen von 399 ^{erm} erhält 0.1 Procent Diphth.-Cultur; bleibt am Leben; Infiltration und Nekrose.

Diagnose. Streptokokkenmischinfection mit schwach virulenten D. B.

12. Franz Lieber, 13 Monate alt.

Aufnahme 10./II. 94. † 27./II. 94. Vor 24 Stunden erkrankt.

a) Fieber: beinahe constant über 38.0° bis 40.4° mit starken Remissionen. b) Harn: enthält am 10. bis 11./II. Eiweiss. c) Submaxillardrüsen: stark geschwollen. d) Nase: blutig-seröser Ausfluss. e) Kehlkopf: frei. f) Lungen: anfangs frei, später beiderseits bronchopneumonische Herde.

g) Rachen:

Am 12./II. 94. Rachenorgane geröthet, mässig geschwollen. Auf der linken Tonsille ein schmieriger, festhaftender, gelblichweisser Belag.

Am 16./II. 94. Beläge fast geschwunden, sehr dünn. Mit einer Oese wird etwas Tonsillarschleim auf Blutserum gestrichen.

Am 27./II. 94. Seit gestern auf der rechten Tonsille eine schmutzige weisse Auflagerung, welche bis heute noch grösser geworden.

Mikroskopischer Befund. Am 12./II. 94. Massenhaft Kokken und kurze Reihen, zahlreiche schlanke Stäbchen, oft in Reihen, daneben kurze, diphtherieähnliche Stäbchen, welche meist parallel gelagert sind.

Am 16./II. 94. —

Am 27./II. 94. Viel weniger Mikroorganismen als am 12./II., meist Diplokokken, wenig Stäbchen.

Bakteriologischer Befund. Am 12./II. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Meist Str. l. b., weniger Str. l. a., daneben viele Colonieen von Coccus e und Colonieen von Stäbchen.

Am 16./II. 94. Blutserumstrich: Neben Str., Coccus e, 2 Colonieen von D. B.

Am 27./II. 94. Serum-Agarplatten und Agarplatten: Meist Str. l. b., daneben verschiedene Kokkenarten und Colonieen von Stäbchen. Gelatineplatten: Verschiedene Kokkenarten, z. T. verflüssigend, Str. l. b. und schlanke Stäbchen.

Virulenzprüfung. Diphtherieculturen vom 16./II. 94.

1. Ein Meerschweinchen von 363 g^{rm} erhält 0.05 Procent Diphth.-Cultur. Bleibt am Leben. An der Impfstelle Infiltration und Nekrose.
2. Ein Meerschweinchen von 224 g^{rm} erhält 0.05 Procent Diphth.-Cultur. Erfolg wie bei 1.
- Tochter-

{	3. Ein Meerschweinchen von 228 g^{rm} erhält 0.1 Procent Diphth.-Cultur. Bleibt am Leben. An der Impfstelle keine Nekrose.
	4. Ein Meerschweinchen von ? g^{rm} erhält 0.5 Procent (!) Diphth.-Cultur. Bleibt am Leben.

Sectionsbefund (Prof. Eppinger). Pharyngitis necroticans. Pneumonia lobular. purul. pulm. dextr. Tubercul. glandul. lymph. colli et bronch. — Tuberc. lienis.

Diagnose. Streptokokkenangina.

Die am 16./II. aus dem Tonsillarschleim gezüchteten zwei Diphtheriecolonieen waren die einzigen, welche bei dieser Patientin gefunden wurden. Da sie auf der Diphtherieabtheilung, allerdings in einem anderen Zimmer, als die übrigen Patienten, lag, so lässt sich das Vorhandensein von D. B. im Rachen wohl erklären. Eine ursächliche Bedeutung kann ihnen nicht zugesprochen werden. Der Coccus e zeigt ähnliche Wachstumsverhältnisse wie der Coccus c, nur verflüssigt er die Gelatine noch langsamer; nach 6 Wochen hat sich erst ein 1 bis 2 mm tiefer Verdunstungstrichter unterhalb dem linsengrossen, grauweissen Rasen gebildet. Von diesem Zeitpunkt an schreitet die Verflüssigung langsam weiter. Die Milch gerinnt in 5 bis 6 Tagen. Im Agar wächst er längs des ganzen Impfstiches. Auf Eiern bildet er eine weisse, auf Kartoffeln eine schmutzige Auflagerung. Die Bouillon trübt er; später klärt sich dieselbe wieder. In der Bouillon bildet er häufig Tetraden; auf Agar, Eiern und Kartoffeln liegt er meist in Haufen, seltener zu zweien; für weisse Mäuse ist er nicht pathogen. Neben demselben und den verschiedenen Streptokokkenarten fanden sich noch 3 Formen von Stäbchen:

1. Plumpe, kurze Stäbchen, häufig parallel gelagert, welche auf Blutserum, Agar und Gelatine viel üppiger wachsen als die D. B., in Form eines grauweissen, feuchtglänzenden Belages.

2. Schlankere Stäbchen, wachsen auf den Gelatineplatten wie *Bacterium coli commune*.

3. Schmale Bacillen, meist als Diplobacillen, oft in Reihen. Charakteristisches Wachsthum auf der schiefen Agarfläche als dünner, schmutzig-

grauer, über die ganze Oberfläche ausgebreiteter Belag. Auf der Gelatineplatte bilden sie an der Oberfläche kleine, transparente Colonieen mit fein gezacktem Rand, mit grauweissem Centrum und grauer Peripherie; sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Folgt man der Eintheilung Barbier's und Martin's, so sind die oben beschriebenen 11 Diphtheriefälle sämtlich der Angine diphtérique avec associations microbiennes zuzutheilen, indem der D. B. stets von Streptokokken, hier und da auch noch von Staphylokokken begleitet war. Auf die vielfach untersuchten Beziehungen, welche zwischen der Virulenz der D. B. und der Schwere der Erkrankung bestehen, wurde nicht näher eingegangen, immerhin ist in jedem Falle wenigstens eine der Diphtheriecolonieen auf ihre Virulenz untersucht worden.

Die geringste Beimischung von Streptokokken fand sich im Falle Sklenar. Da hier jedoch eine Trachealmembran zur Untersuchung gelangte, in welcher bekanntlich meist nur wenig Mikroorganismen zu finden sind, und in der That auch die D. B. nur in spärlicher Menge nachzuweisen waren, so muss wohl auch dieser Fall zu den Mischinfectionen gerechnet werden. Mit Ausnahme eines zweiten Falles (Olbel) handelte es sich sonst immer um eine starke Beimischung von Streptokokken; in den Fällen 7 und 9 war die Zahl der Streptokokkencolonieen sogar weit grösser, als diejenige der Diphtheriebacillen. Es ergaben somit meine bakteriologischen Untersuchungen ein ganz anderes Resultat, als diejenigen Martin's (10), welcher unter 69 diphtherischen Anginen 52 Angines pures fand, und einen verhältnissmässig nur geringen Procentsatz von Mischinfectionen beobachtete. Die Ursache dieser so verschiedenen Ergebnisse liegt wohl, wie schon früher erwähnt wurde, zum grössten Theile an der Untersuchungsmethode. Martin impfte nur auf schiefe Blutserumflächen und zwar so, dass er direct aus dem Rachen auf das Blutserum impfte, während ich, wie oben beschrieben worden, stets Platten anlegte; — und zum geringeren Theile an localen Verhältnissen. Eine annähernd zuverlässige Schätzung der Streptokokkencolonieen ist aber nur auf der Platte möglich, da sie auf den schiefen Blutserumflächen, wegen des geringen Raumes, rasch von den grösseren Diphtheriecolonieen überwuchert und verdeckt werden, so dass sie ganz übersehen oder in ihrer Zahl beträchtlich unterschätzt werden können. Meist waren verschiedene Streptococcenarten vertreten, häufig jedoch so, dass eine derselben die anderen an Zahl bedeutend übertraf. In zwei Fällen (2 und 4) wurde neben dem D. B. nur der Str. l. b. gefunden; der eine derselben endete mit dem Tode (croup descendens); der zweite zeichnete sich durch eine hartnäckige, die Diphtherie lange überdauernde Nephritis aus und zeigte, wie der erste,

wenigstens beginnenden, descendirenden Croup.¹ In einem dritten Falle (Olbel), bei welchem sich im Ganzen nur wenig Mikroorganismen in den Membranen fanden, gehörten neben dem D. B. dem Str. l. b. die meisten Colonieen an; die übrigen traten an Zahl stark zurück; hier kam es nicht zu einer weiteren Verbreitung der Diphtherie über die Luftwege. — Der Str. l. a. fand sich in grösserer Menge im Fall Stuiser, welcher an einer eiterigen Pneumonie (Schluckpneumonie?) zu Grunde ging. Auch hier wurden grössere Membranstücke ausgehustet.² Der Str. congl. wurde nur in einem Falle (Grasmuck) in grösserer Zahl beobachtet; es handelte sich um Pharynx- und Larynx-diphtherie, Membranen wurden nicht ausgehustet. Der Str. br. wurde in fünf Fällen als hauptsächlicher Begleiter der D. B. gefunden, im Falle Endt (septische Diphth.) war er in weit grösserer Masse vorhanden, als der D. B. und die übrigen Streptokokken zusammengenommen. In zwei weiteren Fällen (8 und 10) kam die Zahl der Str. br. derjenigen der D. B. etwa gleich, in den zwei übrigen Fällen (3 und 11) war sie entschieden geringer. Drei dieser Fälle blieben auf den Rachen localisirt, bei einem (3) entwickelte sich noch eine Larynx-diphtherie.

Während in den von Martin (10) untersuchten Fällen der bakteriologische Befund bis zu einem gewissen Grade mit dem klinischen Bilde harmonirte, trat dies bei meinen durchaus nicht ein, indem der bakteriologische Befund insoweit immer ein gleichmässiger war, als es sich stets um Mischinfection handelte — nur die Componenten derselben wechselten —, das klinische Bild aber Erkrankungen von der leichtesten bis zur schwersten Art aufwies. Auch das Ueberwiegen irgend eines der Streptokokken bedingte nicht eine bestimmte Aenderung im Krankheitsbilde. Der Str. brevis z. B. wurde sowohl bei drei ganz leichten Diphtheriefällen, als auch bei der septischen Form in grosser Colonieenzahl gefunden, bei der letzteren allerdings auch die Diphtheriebacillen weit überwiegend. Es würde sich vielleicht empfehlen, solche Fälle als secundäre Streptokokkeninfection oder Secundärinfection mit Streptokokken von den weit häufigeren Mischinfectionen mit Streptokokken auch durch die Benennung zu unterscheiden.

Die Virulenz der Streptokokken bot ebenfalls keine Anhaltspunkte zur Trennung der verschiedenen Fälle; weissen Mäusen gegenüber war sie stets eine fast gleichmässig geringe, ob die Kokken aus einer schweren oder leichten Erkrankung gewonnen wurden. Zieht man endlich in Betracht, dass auch die Virulenz der D. B. — wenigstens nach der hier angewandten Methode der Bestimmung — keine Congruenz mit der

¹ A. a. O. ² A. a. O.

Schwere der Erkrankung zeigte, da in den leichten Fällen wiederholt D. B. von derselben Virulenz wie bei den schweren gefunden wurden, so kommt man zu dem Schluss, dass der bakteriologische Befund allein keine sicheren Anhaltspunkte liefert, um auf die Schwere der diphtherischen Erkrankung beim Menschen zu schliessen. Es muss daher neben der Zahl und der Virulenz der Diphtheriebacillen, neben den Streptokokken, welche sie begleiten, der Disposition, sei sie nun angeboren oder erworben, eine hervorragende Rolle beim Zustandekommen der verschiedenartigen Krankheitsbilder eingeräumt werden.

III. Die Bedeutung der Mischinfection.

Ueber den Einfluss, welchen die Mundbakterien auf die Ansiedelung des Diphtheriebacillus ausüben, ist bis jetzt nichts bekannt geworden. Die vorliegenden Untersuchungen berücksichtigen diese Frage insofern, als sie festzustellen suchen, ob symbiotische oder antagonistische Beziehungen zwischen dem D. B. und den übrigen Mikroorganismen der Diphtheriemembranen, welche zum Theil auch unter normalen Verhältnissen auf der Rachenschleimhaut gefunden werden, bestehen.

Symbiose und Antagonismus können in zwei Richtungen auf den D. B. einwirken, indem sie erstens sein Wachstum begünstigen oder hemmen, und zweitens, indem sie seine Virulenz erhöhen oder abschwächen. Endlich können beide Factoren auch zusammentreffen, indem gleichzeitig mit einer Wachsthumsbeförderung auch eine Steigerung der Virulenz, und zu einer Hemmung des Wachsthum noch Verminderung der Giftproduction sich hinzugesellt. Der Einfluss der Strepto- und Staphylokokken auf die Virulenz wurde an Thierexperimenten geprüft, welche weiter unten mitgetheilt werden; die Bedeutung derselben für die Vermehrung des D. B. wurde im Reagensglas auf dreierlei Weise studirt:

1. wurde gleichzeitig mit dem D. B. irgend eine der erwähnten Kokkenarten in Bouillon geimpft und nun verfolgt, wie sich derselbe in der Mischcultur entwickelt;
2. durch Züchtung des D. B. auf Agar, in welchem vorher Strepto- oder Staphylokokken gewachsen waren;
3. durch Züchtung des D. B. in den Filtraten von Bouillonculturen der erwähnten Mikroorganismen.

Die Mischculturen wurden stets so angelegt, dass von einer 24 Stunden alten Bouilloncultur eines Staphylo- oder Streptococcus und einer ebenso

Tabelle

Nummer	N a m e	Ausgang	Alter Jahre	Fieber	Harn	Nase	Lunge	Kehlkopf	Rachen- beläge
1	Piateck, Marie	geheilt	2	am 1. Tag	normal	frei	frei	frei	reichlich, disseminirt
2	Sklenar, Franz	†	6 $\frac{3}{4}$	andauernd über 39°	Eiweiss	?	Bronchitis	Stenose, Tracheotomie	vereinzelt, spärlich
3	Oswald, Anna	geheilt	10	die ersten zwei Tage bis 38·4	„	frei	frei	desgl.	ausgedehnt
4	Fromm, Mathilde	„	10	7 Tage lang	„	„	Bronchitis	desgl.	„
5	Stuizer, Marie	†	5	anhaltend	„	Coryza	Pneumonie	desgl.	disseminirt mässig reichlich
6	Olbel, Marie	geheilt	5 $\frac{1}{2}$	die ersten 3 Tage	„	„	Bronchitis	desgl.	ausgedehnt
7	Grasmuck, Robert	„	5 $\frac{1}{2}$	5 Tage	„	frei	frei	desgl.	„
8	Sauser, Julianne	„	4 $\frac{1}{4}$	5 „	normal	„	„	frei	„
9	Endt, Josephine	†	7	anhaltend	Eiweiss	Coryza	Broncho- pneumonie	?	sehr ausgedehnt
10	Rauch, Therese	geheilt	2 $\frac{1}{2}$	am 1. Tag	normal	?	Bronchitis	bellender Husten	wenig ausgedehnt
11	König, Marie	„	7	kein	Eiweiss	frei	frei	frei	mässig ausgedehnt

alten Diphtheriebouillonkultur je eine Oese in eine Epruvette mit Bouillon gebracht wurde. Nach 48 Stunden wurde sodann im hängenden Tropfen untersucht, welche der beiden Bakterienarten das Uebergewicht gewonnen hatte. Zugleich wurde nach tüchtigem Umschütteln aus der Mischkultur eine Oese in ein neues Bouillonröhrchen geimpft und dann nach weiteren 48 Stunden die Tochterkultur auf dieselbe Weise untersucht. Die dabei gewonnenen Resultate gelten zunächst nur für das Wachsthum in Bouillon, da abgesehen von eventuell vorhandenen, die Entwicklung des concurrirenden Bacteriums hemmenden Stoffwechselproducten derjenige Mikroorganismus am ehesten das Uebergewicht gewinnen wird, dessen Wachs-

I.

Röthung der Schleimhaut	Schwellung derselben	Bakteriologischer Befund						
		Diphtheriebacillen		Str. br.	Str. l. a.	Str. l. b.	Str. congl.	Kokken
		Zahl	Virulenz	Zahl	Zahl	Zahl	Zahl	Zahl
stark	wenig	sehr gross	stark und schwach	sehr vereinzelt	wenig	wenig	vereinzelt	sehr vereinzelt
„	stark	wenig	wenig	—	—	sehr wenig	—	—
„	mässig	sehr gross	stark	mässig	—	vereinzelt	sehr vereinzelt	—
sehr stark	„	gross	wenig	—	—	zahlreich	—	—
stark	„	mässig	stark	—	mässig	wenig	—	sehr vereinzelt
„	„	wenig	mässig und schwach	sehr vereinzelt	—	„	sehr vereinzelt	„
„	sehr stark	„	schwach	vereinzelt	—	„	mässig zahlreich	„
„	stark	mässig	mässig und stark	zahlreich	—	„	vereinzelt	„
sehr stark	sehr stark	wenig	stark	sehr zahlreich	—	„	—	„
stark	mässig	gross	„	zahlreich	mässig zahlreich	—	vereinzelt	„
„	wenig	„	schwach	mässig zahlreich	—	wenig	—	—

thum in Bouillon das üppigste zu sein pflegt. Das Ergebniss wird in zweiter Linie noch beeinflusst werden von dem Zeitpunkte der Untersuchung, indem die Wachsthumscurve des Diphtheriebacillus viel weniger steil zum Höhepunkt ansteigt, als diejenige der Streptokokken, deren Entwicklung meist nach 48 Stunden schon ihr Maximum erreicht hat. Untersucht man also nach 2 Tagen, so kann man weit mehr Streptokokken als D. B. finden, ohne dass es sich eigentlich um eine Hemmung in der Entwicklung der letzteren handelt. Eine solche wurde nur dann angenommen, wenn thatsächlich in der Controlbouillonröhre der isolirt gezüchteten D. B. eine viel grössere Zahl derselben sich vorfand.

Ein dritter, ebenfalls beachtenswerther Punkt ist noch die momentan vorhandene Wachstumsenergie der betreffenden Bakterien, indem unter sonst gleichen Bedingungen ein Mikroorganismus um so eher von seinem Gegner überwuchert werden wird, je mehr er an Entwicklungsfähigkeit eingebüsst hat. — Das Ergebniss dieser Versuche war insoweit immer übereinstimmend dasselbe, als niemals die Entwicklung des D. B. völlig hintangehalten wurde.

a) *Streptococcus brevis* und *Diphtheriebacillus*.

1. Str. br. aus Fall Oswald.
- 1./III. Str. br. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.
- 3./III. Keine D. B. gewachsen, Str. gut gewachsen; in der Controlröhre D. B. gut gewachsen. Versuch wiederholt.
- 5./III. Diesmal ganz vereinzelte D. B. im hängenden Tropfen, Str. stark überwiegend. Eine Oese der Mischcultur wird in ein neues Bouillonrohr b übertragen.
- 7./III. Im Rohr b derselbe Befund wie am 5./III.
- 15./III. Aus dem Rohr b Uebertragung in ein frisches Bouillonrohr c.
- 17./III. Nur D. B. gewachsen.
2. Str. br. aus Fall Oswald (derselbe Str., jetzt aber viel schlechter wachsend wie früher).
- 24./III. Str. br. und D. B. gleichzeitig in ein Bouillonrohr geimpft.
- 26./III. D. B. stark überwiegend.
- 3./IV. Eine Oese der Mischcultur wird in ein neues Bouillonrohr übertragen.
- 5./IV. Nur D. B. gewachsen.
3. Str. br. aus Fall Grasmuck.
- 10./IV. Str. br. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.
- 12./IV. Die Str. etwas überwiegend.
- 17./IV. Eine Oese der Mischcultur wird in ein zweites Bouillonrohr übertragen.
- 19./IV. D. B. sehr stark überwiegend.

Versuche mit dem Str. br. aus den übrigen Fällen gaben dasselbe Resultat. Der Str. br. hält eine Zeit lang das Wachstum des D. B. zurück, schliesslich behält aber immer der letztere die Oberhand.

b) *Streptococcus longus* und *Diphtheriebacillus*.

1. Str. l. b. aus Fall Lieber.
- 22./II. Str. l. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.
- 24./II. Strept. stark überwiegend, viel geringere Zahl von D. B. — Eine Oese der Mischcultur wird in ein neues Bouillonrohr (b) übertragen.

26./II. Im Rohr b überwiegen die Str. nur noch wenig; im ersten Rohr überwiegen jetzt die Str. nicht mehr. Eine Oese der Mischcultur b wird in ein frisches Bouillonrohr c übertragen.

28./II. In der Röhre c dasselbe Verhältniss wie bei b.

3./III. Aus der ersten Mischcultur wird in eine neue Röhre d geimpft.

5./III. Str. und D. B. ungefähr in gleicher Stärke.

15./III. Aus der ersten Mischcultur nochmals Uebertragung in eine neue Röhre e.

17./III. D. B. überwiegend.

2. Str. l. b. aus Fall Sklenar (schlecht wachsend).

22./II. Str. l. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.

24./II. D. B. überwiegend, nur wenig Str. Aus der Mischcultur wird in eine neue Röhre b geimpft.

26./II. Nur spärlich Strept. gewachsen.

3./III. Aus der ersten Mischcultur wird eine Oese in ein neues Bouillonrohr übertragen.

5./III. Nur sehr spärlich Str., meist D. B.

3. Str. l. b. aus Fall Grasmuck.

11./IV. Str. l. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.

13./IV. Fast ausschliesslich Str. gewachsen, in einzelnen Gesichtsfeldern vereinzelte D. B.

17./IV. Aus der Mischcultur wird eine Oese in frische Bouillon übertragen.

19./IV. Nur D. B. gewachsen.

4. Str. l. a. aus Fall Piateck.

1./III. Str. l. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.

3./III. Sehr vereinzelte D. B.; Str. stark überwiegend. Aus der Mischcultur wird eine neue Röhre b inficirt.

5./III. In der Röhre b dasselbe Verhältniss wie in der ersten Mischcultur.

14./III. Aus der ersten Mischcultur wird eine Oese in ein frisches Bouillonrohr übertragen.

16./III. D. B. stark überwiegend.

5. Str. l. a. aus Fall Stuiser.

28./III. Str. l. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.

30./III. D. B. etwas überwiegend.

8./IV. Aus der Mischcultur wird eine neue Röhre b inficirt.

10./IV. D. B. stärker überwiegend.

Die Versuche mit den übrigen Streptokokken dieser Gruppe gaben alle ein ähnliches Resultat. Streptokokken, welche sich nicht mehr üppig vermehren, überwuchert der D. B. von Anfang an. Neben üppig wachsenden Streptokokken vermehrt er sich im Beginn nur in geringem Maasse, nach kürzerer oder längerer Zeit gewinnt jedoch stets der D. B. das Uebergewicht, wobei wohl, wie auch beim Str. br. der Umstand von Bedeutung ist, dass die Streptokokken in Bouillonculturen etwas rascher abzusterben pflegen, als die D. B.

Streptococcus conglomeratus und *Diphtheriebacillus*.

Von einer grösseren Anzahl von Versuchen, welche alle dasselbe Resultat ergaben, theile ich hier zwei als Beispiele mit:

1. Str. congl. aus Fall Olbel.
- 4./IV. Str. congl. und D. B. werden gleichzeitig in Bouillon geimpft.
- 6./IV. D. B. und Str. gut gewachsen.
- 16./IV. Aus der Mischcultur wird eine Oese in neue Bouillon übertragen.
- 18./IV. Nur D. B. gewachsen.

2. Str. congl. aus Fall Grasmück.
- 11./IV. Str. congl. und D. B. gleichzeitig in Bouillon geimpft.
- 13./IV. D. B. etwas überwiegend.
- 17./IV. Aus der Mischcultur wird eine Oese in frische Bouillon übertragen.
- 19./IV. D. B. stärker überwiegend.

Gegenüber dem Str. congl. gewinnen die D. B. von Anfang an das Uebergewicht. — Mischculturen der einzelnen Kokkenarten und der D. B. zeigten ähnliche Verhältnisse. Auch die Staphylokokken vermögen nicht die Entwicklung des D. B. aufzuhalten; meist gedeihen und Kokken D. B. gut nebeneinander.

Ueber das Wachsthum der D. B. auf Agar, in welchem vorher Strepto- oder Staphylokokken gezüchtet worden waren, wurden nur wenige Versuche angestellt. Nachdem die betreffenden Agarstrichculturen 14 Tage im Brütöfen gestanden hatten, wurden die Auflagerungen mit einer Oese abgekratzt, und hierauf auf dieselbe Strichfläche eine Oese einer Diphtheriebouilloncultur gebracht. — Auf dem Staphylokokkenagar zeigte die Strichcultur stets nur geringe Entwicklung entsprechend den Culturen auf gewöhnlichem Agar; auf dem Streptokokkenagar dagegen war manchmal ein auffallend üppiges Wachsthum der D. B. zu beobachten.

Zur Gewinnung der Filtrate dienten meist die Chamberland'schen Kaolinkerzen, vereinzelt auch kleine Berkefeldfilter. Leider erwiesen sich die meisten mir zu Gebote stehenden Kerzen als unzuverlässig, so dass auch durchaus klare Filtrate jedes Mal noch im Wasserdampf 20—30 Minuten sterilisirt werden mussten. In Folge dessen wurde bei einigen Streptokokkenarten, welche die Bouillon nicht trübten, mit Zurücklassung des Bodensatzes die vollständig klare Bouillon in sterile Eprouvetten überschüttet und durch Controle im Brütöfen ihre Keimfreiheit festgestellt. Auch die Filtrate wurden jedes Mal derselben Prüfung unterworfen.

Um eine möglichst starke Anhäufung von Stoffwechselproducten zu erzielen, wurden stets mehrere Wochen alte Bouillonculturen zu diesen Versuchen herangezogen. Zugleich mit den Filtraten wurde jedes Mal

eine Anzahl Controlröhren mit gewöhnlicher Bouillon benutzt; beide wurden zur gleichen Zeit mit derselben Zahl Oesen einer 24 Stunden alten Diphtheriebouilloncultur beschickt und nach 24 Stunden im hängenden Tropfen untersucht. Die Bouillon- wie die Filtratröhren enthielten immer ungefähr dieselbe Flüssigkeitsmenge. Beide wurden häufig nicht nur mikroskopisch untersucht, sondern es wurde zugleich auch im Thierexperiment die Wirkung von Filtrateulturen mit derjenigen gewöhnlicher Bouillonculturen verglichen.¹

Als Beispiele führe ich die folgenden Versuche an:

a) Streptokokkenfiltrate.

1. Str. br. aus Fall Oswald.

Schwach alkalisch reagirendes, sterilisirtes Filtrat einer 19 Tage alten Bouilloncultur. — Gutes Wachsthum; viele kugelig aufgetriebene Formen. (Benützt zu den Thierversuchen Nr. 76, 78, Tab. IX.)

2. Str. br. aus Fall Sauser.

Aus einer 60 Tage alten Cultur abgeschüttete, nicht sterilisirte Bouillon von amphoterer Reaction. Gutes Wachsthum. Im Filtrat viele Kugelformen, in der Bouillon meist lange Stäbchen. (Benützt zum Thierversuch Nr. 74, Tab. IX.)

3. Str. br. aus Fall Endt.

Amphoter reagirendes, sterilisirtes Filtrat einer 31 Tage alten Bouilloncultur. Gutes Wachsthum. In den Filtraten viel zahlreichere Kugelformen als in der Bouillon. (Benützt zu den Thiervers. Nr. 65, 67, 68, 70, Tab. IX.)

4. Str. l. b. aus Fall Piateck.

Amphoteres Filtrat einer 23 Tage alten Bouilloncultur, nicht sterilisirt. Gutes Wachsthum; in den Filtraten meist kugelige Formen, welche auf Agar übertragen als typische Stäbchen wachsen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 93, Tab. X.)

5. Str. l. a. aus Fall Piateck.

Amphoteres Filtrat einer 17 Tage alten Bouilloncultur, sterilisirt. Gutes Wachsthum. In den Filtraten meist kugelige Formen, in der Bouillon typische Keulen und Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 102 und 104, Tab. X.)

6. Str. l. b. aus Fall Fromm.

a) Amphoter reagirende, 38 Tage alte Bouilloncultur wird abgeschüttet, nicht sterilisirt. Gutes Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 94, Tab. X.)

b) Amphoter reagirendes Filtrat einer 66 Tage alten Bouilloncultur, sterilisirt. Gutes Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 88, Tab. X.)

¹ A. a. O. die Thierversuche mit Filtrateulturen. S. 571 ff.

7. Str. l. a. aus Fall Rauch.

57 Tage alte Bouilloncultur wird abgeschüttet; nicht sterilisirt. Reaction amphoter. Gutes Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 98, Tab. X.)

8. Str. l. b. aus Fall König.

Aus einer 30 Tage alten Bouilloncultur abgeschüttete, amphoter reagirende, nicht sterilisirte Bouillon. Trotz wiederholter Infection mit D. B. verschiedener Herkunft kein Wachsthum.

9. Str. congl. aus Fall Olbel.

Schwach alkalisch reagirendes Filtrat einer 29 Tage alten Bouilloncultur. Gutes Wachsthum, meist kurze, plumpe Stäbchen, in der Bouillon lange Stäbchen. (Benützt zum Thierversuch Nr. 106 und 108, Tab. XI.)

10. Str. congl. aus Fall Rauch.

Aus einer 37 Tage alten, amphoter reagirenden Cultur wird die klare Bouillon abgeschüttet, nicht sterilisirt. Ueppiges Wachsthum, meist Stäbchen (Benützt zum Thierversuch Nr. 116 und 117, Tab. XI.)

b) Staphylokokkenfiltrate.

1. Coccus a aus Fall Stuiser.

a) 63 Tage alte, deutlich alkalisch reagirende Cultur wird abgeschüttet, nicht erhitzt. Gutes Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 137, Tab. XII.)

b) Filtrat einer 28 Tage alten, alkalisch reagirenden Bouilloncultur, sterilisirt; gutes Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 135, Tab. XII.)

2. Coccus b aus Fall Rauch.

Filtrat einer 41 Tage alten Bouilloncultur, sterilisirt, von amphoterer Reaction. Gutes Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 138, Tab. XII.)

3. Coccus c aus Fall Piateck.

Sterilisirtes, amphoter reagirendes Filtrat einer 28 Tage alten Bouilloncultur; sehr üppiges Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 125, Tab. XII.)

4. Coccus c aus Fall Grasmuck.

Sterilisirtes, amphoter reagirendes Filtrat einer 30 Tage alten Bouilloncultur. Ueppiges Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 129, Tab. XII.)

5. Coccus c aus Fall Sauser.

Sterilisirtes, alkalisch reagirendes Filtrat einer 32 Tage alten Bouilloncultur. Sehr üppiges Wachsthum, meist Stäbchen. (Benützt zum Thiervers. Nr. 131, Tab. XII.)

Nachdem das Wachsthum der Diphtheriebacillen in den Filtraten der Strepto- und Staphylokokken untersucht worden, wurde auch das Verhalten der letzteren in den Filtraten der Diphtherieculturen geprüft.

c) Diphtheriebacillenfiltrate.

1. Sterilisirtes, alkalisch reagirendes Filtrat einer 25 Tage alten Bouillon-cultur.

2	Röhren	infeirt	mit	Str. br.	aus	Fall	Endt.	Schwaches u. verlangsamtes W.
2	"	"	"	"	"	"	"	Sauser. Kein Wachsthum.
2	"	"	"	Staph. pyog. aur.				Gutes "

2. Sterilisirtes Filtrat einer 34 Tage alten, alkalisch reagirenden Bouillon-cultur.

2	Röhren	infeirt	mit	Str. br.	aus	Fall	Rauch.	Schwaches Wachsthum.
2	"	"	"	Str. l. a.	"	"	"	"
2	"	"	"	Str. congl.	"	"	"	Gutes "
2	"	"	"	Coccus c	"	Endt.	"	"
2	"	"	"	" c	"	Sauser.	"	"
2	"	"	"	" a	"	Stuise	"	"

3. Sterilisirtes Filtrat einer 23 Tage alten, alkalisch reagirenden Bouillon-cultur.

2	Röhren	infeirt	mit	Coccus c	aus	Fall	Piateck.	Gutes Wachsthum.
2	"	"	"	Str. l. a.	"	"	"	Kein "
2	"	"	"	Str. l. b.	"	"	Fromm.	" "
2	"	"	"	Str. congl.	"	"	Olbel.	Schwaches u. verlangsamtes W.

4. Sterilisirtes Filtrat einer 66 Tage alten, alkalisch reagirenden Bouillon-cultur.

2	Röhren	infeirt	mit	Coccus b	aus	Fall	Rauch.	Gutes Wachsthum.
2	"	"	"	" c	"	"	Grasmück.	" "
2	"	"	"	Str. l. a.	"	"	Piateck.	Kein "
2	"	"	"	Str. l. b.	"	"	"	Schwaches, verlangsamtes W.
2	"	"	"	Str. l. a.	"	"	Rauch.	" "

Mit Ausnahme einer einzigen Cultur von Str. l. b. (Fall König) kam es auf allen Filtraten zur Entwicklung des D. B., in einzelnen Kokkenfiltraten gedieh er sichtlich üppiger, als in der gewöhnlichen Bouillon. In den Filtraten des D. B. dagegen war das Wachsthum der meisten Streptokokken ein auffallend schlechtes im Vergleich zu den Bouilloncontrolröhren, bei einzelnen kam es trotz mehrmaliger Impfung überhaupt nicht zur Entwicklung. Die Staphylokokken wachsen auf den Diphtheriefiltraten ganz gut. — Auffallend war in manchen Filtraten das Auftreten vieler kugelig aufgetriebenen Formen, während in den Bouillonröhren typische lange Stäbchen und Keulen wuchsen. Sehr wahrschein-

lich steht die Veränderung der Reaction damit in Zusammenhang; diesbezügliche Versuche wurden jedoch nicht unternommen. Jedenfalls sind sie nicht als Degenerationsformen aufzufassen, da die betreffenden Filtrat-culturen häufig an Virulenz die Bouillonculturen übertrafen.

Als Resultat dieser Versuche ergibt sich daher folgendes:

Zwischen dem Diphtheriebacillus und den Streptokokken besteht in der Nährbouillon ein Antagonismus, welcher aber stets zu Ungunsten der Streptokokken ausfällt. Zwischen den D. B. und den Staphylokokken besteht kein Antagonismus. Die Stoffwechselproducte der Streptokokken, namentlich aber diejenigen der Staphylokokken begünstigen das Wachsthum der D. B. in der Bouillon; diejenigen der Streptokokken manchmal auch auf Agar. Die Stoffwechselproducte der D. B. hindern oder verlangsamen das Wachsthum der Streptokokken in Bouillon.

Ausser durch den eben erwähnten, das Wachsthum und die Entwicklung der D. B. begünstigenden Einfluss können die „secundären“ Mikroorganismen aber noch auf eine zweite Weise den diphtheritischen Process begünstigen, indem ihre Stoffwechselproducte sowohl die Gewebe für die Diphtherieinfection vorbereiten und empfänglich machen, als auch, wenn der D. B. einmal haftet, sich mit den Toxinen desselben zum gemeinsamen, kräftigeren Angriff auf den Organismus vereinigen können. Wie weit diese Voraussetzung sich erfüllte, mögen die folgenden Thierversuche zeigen, welche in der Weise angestellt wurden, dass Meerschweinchen entweder mit den Filtraten oder den Culturen der Staphylo- und Streptokokken vorbehandelt wurden, oder dieselben gleichzeitig, resp. unmittelbar vor den Diphtheriebacillen injicirt erhielten. Die Diphtherieinfection wurde nach der oben beschriebenen Methode von Klemensiewicz und Escherich (5) mit 24 und 48 Stunden alten Bouillonculturen vorgenommen.

a) Mischinfection mit Str. br. und D. B.

Tabelle II.

Datum	1. Ohne Streptokokken.					2. Mit Streptokokken.				
	Nummer	Gewicht gm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht gm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
1894										
27./III.	1	555	0.05	† in 7 Tagen	427	2	521	0.05	† in 5 Tagen	436
27./III.	3	372	0.05	† in 6½ Tagen	256	4	380	0.05	† „ 2 „	364
21./V.	5	265	0.1	Infiltration	—	6	260	0.1	† „ 1½ „	240
20./VI.	7	348	0.05	Infiltration und Nekrose	—	8	365	0.05	† „ 9½ „	244

Die Meerschweinchen Nr. 2 und 4 bekamen vor der Injection der Diphtheriecultur am 19./III., 21./III., 23./III. und am 27./III. zugleich und an derselben Stelle mit den D. B. je 2.5 und 2.0^{cem} 4—9 Tage alter Bouillonculturen eines Str. br. aus Fall Oswald. Während der Streptokokkenbehandlung nahmen sie um 7 resp. 3^{grm} an Körpergewicht ab. Zwei Controlthiere von 397 und 251^{grm} erhielten gleichzeitig je 2.0 und 1.25^{cem} derselben Streptokokkenculturen injicirt. Auch sie zeigten anfangs Gewichtsabnahme, blieben aber am Leben. Das Meerschweinchen Nr. 6 bekam 0.5^{cem} Filtrat eines Str. br. aus Fall Endt; Nr. 8 erhielt 1.0^{cem} Filtrat eines Str. br., welcher von einer Eicultur stammte, aus Fall Rauch; beide Thiere erhielten die Filtrate unmittelbar vor der Diphtherieinfection.

Die mit Filtraten oder Culturen vorbehandelten Meerschweinchen zeigen eine auffallend geringere Widerstandsfähigkeit als die Controlthiere; das Thier Nr. 6 z. B. erliegt in 1½ Tagen der Infection mit einem D. B., welcher beim Controlthiere nur eine geringe Infiltration verursachte; das Thier Nr. 8 einem D. B., welcher beim Controlthier Infiltration und Nekrose hervorrief. Der Versuch vom 27./III. 94, bei welchem D. B. von stärkerer Virulenz verwendet wurden, ergiebt ein ähnliches, allerdings nicht so in die Augen fallendes Ergebniss.

b) Mischinfection mit Str. longus und D. B.

Tabelle III.

Datum	1. Ohne Streptokokken.					2. Mit Streptokokken.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
1894										
22./II.	9 363		0.05	Infiltration	—	10 395		0.05	+ nach 40 Tagen	356
22./II.	11 221		0.05	Infiltration und Nekrose	—	12 202		0.05	+ „ 12 „	160
9./III.	13 485		0.05	desgl.	—	14 446		0.05	Infiltration und Nekrose	—
9./III.	15 244		0.05	desgl.	—	16 271		0.05	+ nach 10 Tagen	225
17./VII.	17 318		0.01	desgl.	—	18 322		0.1	+ „ 2 „	283
„						19 348		0.1	Infiltr. u. Nekrose	—

Die Meerschweinchen Nr. 10 und 12 bekamen 3.0 und 1.5^{cem} einer 8 Tage alten, noch übertragbaren Bouilloncultiv von Str. l. b. aus Fall Piateck zugleich und an derselben Stelle, wie die Diphtheriebouilloncultiv. Meerschweinchen Nr. 10 starb in der Gravidität mit zwei beinahe ausge- tragenen Jungen; ohne dieselben betrug sein Gewicht 237^{grm}. Die Thiere

Nr. 14 und 16 bekamen am 5./III., 7./III., 8./III. und am 9./III. unmittelbar vor der Diphtherieinfection je 2½ und 2.0^{cem} von 10 Tage, 33 Tage, 8 und 6 Tage alten Bouillonculturen eines Str. l. br. aus Fall Piateck; während der Behandlung mit Streptokokkenculturen nahm nur das eine Meerschweinchen Nr. 14 um 7^{grm} ab. — Das Meerschweinchen Nr. 16 zeigte bei der Section in der Leber, Milz und in den Lungen mehr weniger zahlreiche, miliare bis erbsengrosse Abscesse mit käsigem Eiter. Die grösseren Abscesshöhlen in der Leber hatten derbe, bindegewebige Wandungen. Die Leberabscesse wurden bakteriologisch untersucht. Es liessen sich aus denselben lange Streptokokken züchten, welche aber, im Gegensatz zu den injicirten, die Bouillon trübten. — Meerschweinchen Nr. 18 bekam 1.0^{cem} einer 46 Tage alten Bouilloncultur eines Str. l. b. aus Fall Fromm am 16. und 17./VII. an der rechten Bauchseite, Nr. 19 dieselbe Menge an der linken Bauchseite eingespritzt. Die Diphtheriebouilloncultur wurde bei Nr. 19 an derselben Stelle wie die Streptokokkencultur eingespritzt, bei Nr. 18 dagegen auf der entgegengesetzten Bauchseite.

Ein Blick auf die Tabelle III. lehrt, dass auch die Mischinfection mit Str. l. für die Meerschweinchen gefährlicher ist, als die reine Diphtherieinfection.

Das Resultat der Mischinfectionen ist hier allerdings dadurch getrübt, dass bei Nr. 10 die Gravidität zu dem schlimmen Ausgang beigetragen haben kann. Bei Nr. 16 können die multipeln Abscesse als Todesursache angeschuldigt werden; ob dieselben von den eingespritzten Streptokokken herrühren, lasse ich dahingestellt.

c) Mischinfection mit Str. conglomeratus und D. B.

Tabelle IV.

Datum	1. Ohne Streptokokken.					2. Mit Streptokokken.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
1894										
18./II.	20 447	0.05	Infiltr. u. Nekrose	—	21 440	0.05	† nach 14 Tagen	253		
18./II.	22 298	0.05	desgl.	—	23 311	0.05	† „ 3 „	260		
15./II.	24 424	0.05	† nach 5 Tagen	330	25 584	0.05	† „ 3 „	530		
15./II.	26 280	0.05	† „ 1½ „	274	27 273	0.05	† „ 2½ „	262		
6./V.	28 311	0.05	† „ 3½ „	269	29 253	0.05	† „ 1½ „	243		
6./V.	30 257	0.05	† „ 5½ „	184	31 220	0.05	† „ 4 „	182		
28./VI.	32 338	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—	33 361	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—		
17./VII.	34 318	0.1	desgl.	—	35 613	0.1	„ „ Abscess	—		
„					36 590	0.1	„ „ Nekrose	—		

Die Meerschweinchen Nr. 21 und 23 bekamen gleichzeitig und an derselben Stelle mit der Diphtherieinfection 1.5 und 1.0^{cem} Filtrat eines Str. congl. aus Fall Piateck. — Die Thiere Nr. 25 und 27 bekamen am 11./II., 12./II., 13./II. und 15./II. auf derselben Bauchseite, wo die Diphtheriecultur injicirt wurde, 2.0 und 1.0^{cem} von 4 Tage alten Bouillonculturen eines Str. congl. aus Fall Piateck. Sie nahmen während der Behandlung mit Streptokokken 36 resp. 19^{grm} ab. Ein mit denselben Streptokokken behandeltes Controlthier zeigte anfangs ebenfalls Gewichtsabnahme, erholte sich aber dann wieder. — Die Meerschweinchen Nr. 29 und 31 erhielten je 0.5^{cem} Filtrat eines Str. congl. aus Fall Olbel; Nr. 33 bekam 1,0^{cem} abgeschütteter Bouillon einer Str. congl.-Cultur aus Fall Rauch; Nr. 35 und 36 endlich erhielten am 16. und 17./VII. je 2.0^{cem} einer 42 Tage alten Bouilloneultur eines Congl. aus Fall Rauch, Nr. 35 an derselben Stelle, wo die Diphtheriecultur eingespritzt wurde, Nr. 36 auf der entgegengesetzten Bauchseite.

Eine wesentlich schwerere Erkrankung, als die Infection mit D. B. allein sie verursachte, konnte nur einmal, im Versuch vom 18./II. 91, bei der Mischinfection constatirt werden, in den übrigen Fällen war kaum ein Unterschied zwischen dem Verlauf der letzteren und demjenigen der einfachen Diphtherie zu beobachten.

d) Mischinfection mit Staphylokokken und D. B.

1. Coccus c und e.)

Tabelle V.

Datum	1. Ohne Staphylokokken.					2. Mit Staphylokokken.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
1894										
6./II.	37	415	0.05	† nach 1 1/4 Tag.	414	38	499	0.05	Infiltr. u. Nekrose	—
„	39	345	0.05	† „ 1 1/2 „	328	40	318	0.05	† nach 2 1/2 Tag.	287
„						41	235	0.05	Infiltr. u. Nekrose	—
„						42	302	0.05	† nach 1 1/2 Tag.	281
16./VI.	43	751	0.1	† „ 2 „	—	44	645	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—
27./VI.	45	447	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—	46	369	0.1	Infiltration	—
30./VI.	47	322	0.1	† nach 9 1/2 Tag.	264	48	304	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—
16./VII.	49	318	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—	50	310	0.1	Infiltration	—
16./VII.						51	288	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—

Die Meerschweinchen Nr. 38 und 40 bekamen am 1./II., 2./II., 3./II. und 6./II. je 2.0^{cem}, Nr. 41 und 42 je 1.0^{cem} 14 und 15 Tage alter

Bouillonculturen eines *Coccus c* aus Fall Piateck, am 6./II. zugleich und an derselben Stelle, wie die Diphtheriecultur, mit Ausnahme des Thieres Nr. 42, welches die letztere am Rücken injicirt erhielt, während die Staphylokokkenculturen am Bauch eingespritzt wurden. — Meerschweinchen Nr. 44 erhält unmittelbar vor der Diphtherieinfection 1.0^{cem} Filtrat einer 31 Tage alten Bouilloncultur von *Coccus e* aus Fall Lieber; Nr. 46 1.0^{cem} Filtrat einer 56 Tage alten Bouilloncultur von *Coccus c* aus Fall Endt; Nr. 48 1.0^{cem} Filtrat einer 28 Tage alten Cultur von *Coccus c* aus Fall Piateck. — Meerschweinchen Nr. 50 und 51 erhielten am 16. und 17./VII. je 1.0^{cem} einer 20 Tage alten Bouilloncultur von *Coccus e* aus Fall Lieber, Nr. 50 an derselben Stelle, Nr. 51 auf der entgegengesetzten Bauchseite die Diphtheriecultur.

Die Mischinfection mit den Staphylokokken dieser Gruppe ergibt ein von den Streptokokkenversuchen sehr verschiedenes Resultat, indem in den meisten Versuchen die Mischinfection auffallend milder verläuft, als die reine Diphtherie; dies gilt jedoch nur für die Fälle, wo D. B. und Staphylokokken an derselben Stelle injicirt werden. Bei Nr. 42 und 51, bei welchen die Diphtherieinfection an einer anderen Stelle erfolgte, als die Injection der Staphylokokken, war eine Herabsetzung in der Schwere der Infection nicht vorhanden. Nr. 45 und 46 hatten schon einmal Diphtherie mit Nekrose überstanden; bei der zweiten Infection führte die Injection von D. B. allein zu einer Infiltration mit nachfolgender Nekrose, die Einspritzung von Staphylokokkenfiltrat und D. B. rief dagegen nur Infiltration hervor. Nr. 38, 41 und 44 erhoiten sich erst nach langer und schwerer Krankheit.

2. *Coccus b.*)

Tabelle VI.

Datum	Nr.	Gewicht gram	Erhält injicirt	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort. gram
17./VII. 94	52	318	0.1 Proc. D.	Infiltration u. Nekrose	—
„	53	367	0.1 „ D. + Staph.	† nach 1½ Tagen	285
„	54	357	0.1 „ D. + „	† „ 1¼ „	281
„	55	390	Staphylokokken	Abscess. Gewichts- abnahme	—

Meerschweinchen Nr. 53, 54 und 55 erhalten am 16. und 17./VII. je 1.0^{cem} einer 56 Tage alten, vollständig verflüssigten Gelatinecultur injicirt; Nr. 53 am 17./VII. an derselben Stelle die Diphtheriebouilloncultur; Nr. 54 auf der entgegengesetzten Bauchseite. Die Section ergibt bei Nr. 53 starke Infiltration der Bauchmuskulatur, Röthung der Nebennieren, starkes Exsudat im Herzbeutel, Spur in beiden Pleuren; bei Nr. 54 ist die Infiltration viel ausgedehnter; die Nebennieren sind nicht

geröthet, in den Pleurahöhlen ist kein Exsudat, im Herzbeutel starkes Exsudat vorhanden. Bei beiden Thieren lassen sich aus dem Herzblut zahlreiche Colonieen des *Coccus b* züchten. Nr. 55 wird schwer krank, zeigt Gewichtsabnahme, bekommt an der Impfstelle einen grossen Abscess, welcher sich spontan eröffnet; erholt sich nur langsam wieder. Als die Versuche abgebrochen werden mussten — 14 Tage nach der Infection — hatte das Thier sein früheres Gewicht noch nicht wieder erreicht. — Das nur mit D.B. infectirte Thier, Nr. 52, zeigte keine Gewichtsabnahme.

3. *Coccus a*.

Tabelle VII.

Datum	Nr.	Gewicht gram	Erhält injicirt	Erfolg der Infection
17./VII. 94	52	318	0.1 Proc. D.	Infiltration und Nekrose
„	56	382	0.1 „ D. + Staph.	„ „ „
„	57	391	0.1 „ D. + „	„ „ „

Meerschweinchen Nr. 56 und 57 erhielten am 16. und 17./VII. je 1.0^{cem} einer 9 Wochen alten, vollständig verflüssigten Gelatinecultur eingespritzt, Nr. 56 an derselben Stelle mit der Diphtheriecultur, Nr. 57 auf der entgegengesetzten Seite der Bauchhaut. Während das mit den D. B. allein geimpfte Thier in seinem Allgemeinbefinden nicht sichtlich gestört wurde — es zeigte vom Tage der Infection an beständig Gewichtszunahme —, wurde bei den Meerschweinchen Nr. 56 und 57 ein starker Gewichtsverlust beobachtet, von welchem sie sich nach 14 Tagen noch nicht erholt hatten. — Nach diesem Versuche stellt sich die Prognose der Mischinfection mit dem *Coccus a* jedenfalls nicht günstiger, als diejenige der einfachen Diphtherie.

4. *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Tabelle VIII.

Datum	Nummer	Gewicht gram	Erhält injicirt	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort. in gram
27./VI. 94	58	447	0.1 Proc. D.	Infiltration und Nekrose	—
„	59	480	0.1 „ D. + Staph. pyog.	„ „ „	—
17./VII. 94	60	318	0.1 „ D.	„ „ „	—
„	61	340	0.1 „ D. + Staph. pyog.	Infiltration. Abscess. Gewichtsabnahme	—
„	62	340	0.1 „ D. + „ „	† nach 20 Stunden	288
„	63	532	Staphylococcus pyogenes	Abscess	—

Meerschweinchen Nr. 58 und 59 haben beide schon einmal Diphtherie mit Nekrose überstanden; Nr. 59 erhält unmittelbar vor der Diphtherieinfection 1.0^{cem} Filtrat einer 35 Tage alten Bouilloncultur injicirt. Die Thiere Nr. 61, 62 und 63 erhalten am 16./VII. und 17./VII. je 1.0^{cem} einer 50 Tage alten, völlig verflüssigten Gelatinecultur eingespritzt, Nr. 61 an derselben Stelle am 17./VII. die Diphtheriecultur, Nr. 62 auf der entgegengesetzten Bauchseite. Die Section des Thieres Nr. 62, welches 20 Stunden nach der Infection starb, ergiebt: die Bauchmuskulatur hämorrhagisch infiltrirt, ödematös. Keine Röthung der Nebennieren, keine Exsudate. Im Herzblut zahlreiche Colonieen von *Staphylococcus pyogenes aureus*. — Das Thier Nr. 61 ist längere Zeit sehr schwer krank; an der Impfstelle bildet sich ein grosser Abscess, welcher spontan aufbricht. Nr. 63 zeigt an der Impfstelle nur einen kleinen Abscess ohne Allgemeinerscheinungen.

Die Mischinfection mit *Staph. pyog. aur.* ergiebt ein ähnliches Resultat, wie diejenige mit *Coccus b.* (*Staph. pyog. alb.*); jedenfalls ist sie nicht gutartiger, als die Infection mit D. B. allein, sonst hätte zum mindesten im Versuche vom 27./VI. die Mischinfection bei Nr. 59, welches schon einmal Diphtherie überstanden und damit schon eine gewisse Widerstandsfähigkeit erworben hatte, nicht mehr zur Nekrose führen sollen. Bei der Anwendung verflüssigter Gelatineculturen war die Mischinfection sogar sichtlich bösartiger, als die Infection mit D. B. oder Staphylokokken allein. Da jedoch bei den Versuchen über die Mischinfection mit dem *Coccus c* keine Gelatineculturen benutzt wurden, und die Anwendung der letzteren immerhin andere Verhältnisse schaffen könnte wie die Application von Bouillonculturen, so mögen die beiderseitigen Resultate nicht in Vergleich gezogen werden.

Die Bedeutung der Streptokokken in den Diphtheriemembranen erklärt sich aus den angegebenen Versuchen ohne Weiteres; sämtliche Arten erhöhen die Intensität des Diphtherieinfectes in sichtlicher Weise; immerhin tritt diese Eigenschaft bei einzelnen Individuen deutlicher hervor, als bei den anderen, und überschreitet nicht eine gewisse Grenze. Bei sehr schwach virulenten D. B. wurde durch die Anwesenheit der Streptokokken die Erkrankung nicht immer so gesteigert, dass der Tod eintrat, dennoch war auch hier der gefährlichere Charakter der Mischinfection meist nicht zu verkennen, indem die Allgemeinerscheinungen schwerer, die Nekrose eine umfangreichere, die Gewichtsverluste grösser und länger anhaltend waren, als bei der reinen Diphtherie. Die Bedeutung der Staphylokokken wurde bei den bakteriologischen Untersuchungen der Diphtheriefälle als eine geringe erkannt. Immerhin können sie in den Fällen, in welchen sie in grosser Zahl vorhanden sind, einen

milderen Verlauf bedingen, allerdings nur da, wo es sich um Kokken der Gruppe c handelt. Dabei mag nochmals betont werden, dass bei der Anwendung stark virulenter D. B., welchen die Controlthiere rasch erlagen, auch die mit Staphylokokken vorbehandelten Thiere schwere Erkrankungen zeigten und sich nur langsam wieder erholten. Die Ursache dieses die Schwere der Erkrankung abschwächenden Einflusses ist jedenfalls in localen Processen zu suchen; denn spritzt man Staphylokokken und D. B. an zwei verschiedenen Stellen ein, so zeigt die Mischinfection dieselbe Intensität, wie die reine Diphtherie. Die Staphylokokkencultur selbst trägt ebenfalls nicht die Schuld daran, da in den Filtraten derselben die D. B. sowohl gut gedeihen, als auch, wie weitere Versuche zeigen werden, die in diesen Filtraten gezüchteten D. B. sich sehr virulent erweisen. Sehr wahrscheinlich verhindert die durch die Staphylokokken hervorgerufene Entzündung die Aufsaugung des Diphtherietoxins bis zu einem gewissen Grade und beschränkt dadurch den Infect mehr auf die localen Erscheinungen. — Die Strepto- und Staphylokokken sind nun ferner noch von Bedeutung für den diphtherischen Process durch ihren Einfluss auf die Vermehrung und die Giftproduction der D. B. Diesen Punkt beleuchten folgende Experimente, welche die Wirkung von in Filtraten gewachsenen D. B. mit solchen, welche in gewöhnlicher Bouillon gezüchtet wurden, vergleichen.¹

Filtrateculturen.

a) Verhalten der D. B. in Filtraten des Strept. brevis.

Tabelle IX.

Datum	1. Bouillonculturen.					2. Filtrateculturen.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
1894										
21./V.	64	265	0.1	Infiltration	—	65	228	0.1	† nach 2 1/2 Tag.	201
„	66	314	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—	67	227	0.1	† „ 1 1/2 „	213
„						68	252	0.1	† „ 1 1/4 „	248
30./V.	69	316	0.05	† nach 3 Tagen	296	70	348	0.05	† „ 2 1/2 „	324
23./VI.	71	436	0.05	Infiltr., Nekrose, Abmagerung	—	72	388	0.05	† „ 11 „	267
30./VI.	73	322	0.1	† nach 9 1/2 Tagen	264	74	292	0.1	† „ 2 1/2 „	267
16./IV.	75	470	0.1	† nach 1 1/4 Tag.	441	76	387	0.1	Infiltr. u. Nekrose	—
„	77	248	0.1	† „ 1 1/2 „	230	78	270	0.1	desgl.	—
23./VI.	79	436	0.05	Infiltr., Nekrose, Abmagerung	—	80	583	0.05	desgl.	—
26./VI.	81	348	0.05	Infiltr. u. Nekrose	—	82	335	0.05	Leichte Schwell.	—

¹ Die Gewinnung dieser Culturen wurde auf S. 561 beschrieben.

Die Filtrate des Versuches vom 21./V. 94 und 30./V. 94 stammen von einem Str. br. aus Fall Endt (a. a. O. S. 561, 3); bei Nr. 65 wurde sterilisiertes Filtrat, bei Nr. 67 nicht erhitztes Filtrat, bei Nr. 68 und 70 durch $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge schwach alkalisch gemachtes Filtrat angewendet. Zu den Versuchen vom 23./VI. und 26./VI. 94 (Nr. 72, 80 und 82) wurde eine 3 Wochen alte, abgeschüttete Bouilloncultur von Str. br. aus Fall Rauch verwendet; bei Nr. 72 eine direct aus der Rachenmembran gezüchtete Cultur, welche die Bouillon säuerte; bei Nr. 80 und 82 alkalische Bouillonculturen, welche von der bei Nr. 72 verwendeten Cultur abstammen, aber durch Eiculturen umgezüchtet worden waren (a. a. O. S. 536). Bei Nr. 74 wurden die D. B. auf der abgeschütteten Bouillon eines Str. br. aus Fall Sauser gezüchtet (a. a. O. S. 561, 2); bei Nr. 76 und 78 auf dem Filtrat eines Str. br. aus Fall Oswald (a. a. O. S. 561, 1). — Während in den meisten Culturen des Str. br. die Wirkung der D. B. erhöht erscheint, war das Resultat bei dem aus Fall Oswald stammenden Str. br. das gerade entgegengesetzte. Der letzte unterschied sich allerdings auch noch in anderen Punkten von den übrigen Culturen, indem er 1. für weisse Mäuse virulenter war, als sie, 2. nicht sandförmigen, sondern einen mehr schleimigen Bodensatz bildete, und 3. die Reaction der Bouillon nicht veränderte. Der letzte Punkt allein ist jedenfalls nicht von Bedeutung für die abgeschwächte Wirkung der D. B., da in dem auf schwach alkalische Reaction eingestellten, ursprünglich amphoteren Filtrate des Str. br. aus Fall Endt (Nr. 68 und 70) die D. B. dieselbe erhöhte Virulenz zeigten, wie in denjenigen mit amphoterer Reaction. Es wäre daher naheliegend, den Str. br. aus Fall Oswald ganz von den übrigen Str. breves zu trennen, wenn nicht die von Eiculturen abstammenden Str. br. ähnliche Verhältnisse zeigen würden, und zwar sowohl, was das Aussehen und die Reaction der Bouillonculturen betrifft, als auch mit Bezug auf das Verhalten der in ihnen gezüchteten D. B. (Nr. 80 und 82). Die in denselben auftretende Virulenzverminderung ist um so auffallender, als die Mischinfection mit Str. br.-Filtraten oder -Culturen und Diphtherie-bouillonculturen die Schwere der Infection stets erhöhte, gleichviel ob man mehr oder weniger stark Säure producirende Str. br. dazu auswählte.

Vgl. Tabelle X auf folg. Seite.

Zum Versuche vom 7./II. wurde das schwach alkalische, nicht erhitzte Filtrat einer 6 Tage alten, nicht mehr übertragbaren Bouilloncultur von Str. l. b. aus Fall Piateck benutzt; am 5./VI. 94 das Filtrat eines Str. l. b. aus Fall Fromm (a. a. O. S. 561, 6b); am 8./VI. das amphoter reagirende, erhitzte Filtrat einer 43 Tage alten Bouilloncultur von Str. l. b. aus Fall Sauser; am 11./VII. bei Nr. 92 die abgeschüttete, klare Bouillon einer amphoter reagirenden, 36 Tage alten Bouilloncultur von Str. l. a.

b) Verhalten der D. B. in den Filtraten des Str. longus.

Tabelle X.

Datum 1894	1. Bouilloneulturen.					2. Filtrateulturen.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
7./II.	83	487	0.05	† nach 42 Tag.	282	84	517	0.05	† nach 1½ Tag.	470
"	85	265	0.05	† " 5¼ "	208	86	271	0.05	† " 1½ "	252
5./VI.	87	437	0.1	† " 2¼ "	403	88	284	0.1	† " 2½ "	265
8./VI.	89	539	0.05	Infiltr. u. Nekros.	—	90	479	0.05	† " 1½ "	463
11./VII.	91	371	0.1	† nach 11¼ Tag.	254	92	379	0.1	† " 2¼ "	331
"						93	328	0.1	† " 1½ "	305
"						94	344	0.1	† " 1½ "	300
13./VII.	95	344	0.1	Infiltr. u. Nekros.	—	96	353	0.1	† " 23 "	—
19./VII.	97	310	0.1	desgl.	—	98	350	0.1	† " 2¼ "	317
"						99	395	0.1	† " 1½ "	370
"						100	311	0.1	† " 3¼ "	263
2./III.	101	581	0.05	† nach 2½ Tag.	504	102	352	0.05	† nach 6½ Tag.	277
"	103	360	0.05	† " 1½ "	308	104	312	0.05	† " 2½ "	271

aus Fall Piateck: bei Nr. 93 das Filtrat eines Str. l. b. aus Fall Piateck (a. a. O. S. 561, 4); bei Nr. 94 eine Bouilloncultur von Str. l. b. aus Fall Fromm (a. a. O. S. 561, 6a); am 13./VII. die abgeschüttete, klare Bouillon einer amphoter reagirenden, 30 Tage alten Cultur von Str. l. b. aus Fall Oswald; am 19./VII. bei Nr. 98 eine Cultur von Str. l. a. aus Fall Rauch (a. a. O. S. 562, 7); bei Nr. 99 eine von Nr. 98 abstammende, die Bouillon nicht mehr trübende Cultur (mit Zwischencultur auf Ei); bei Nr. 100 eine von Nr. 99 abstammende, die Bouillon trübende Cultur (mit Zwischencultur auf Milch). Am 2./III. 94 wurde endlich das Filtrat eines Str. l. a. aus Fall Piateck (a. a. O. S. 561, 5) verwendet, in welchem es im Gegensatze zu sämtlichen übrigen Culturen des Str. longus nicht zu einer Steigerung in der Virulenz der D. B. kam. Die betreffende Cultur war die einzige, welche weisse Mäuse tödtete, in den Bouillon-culturen erhielt sie sich ungewöhnlich lang übertragbar. Ein Versuch, welcher mit einer nach 4 Monaten übertragenen Tochtercultur angestellt wurde, ergab die gewöhnliche erhöhte Wirkung der D. B. auf Meer-schweinchen. (Versuch vom 11./VII. 94 Nr. 92.) Dieselbe trat auch hier, wie bei den Filtrateulturen der vorhergehenden Gruppe, am deutlichsten hervor, wenn schwächer virulente D. B. zu den Versuchen benutzt wurden, indem dann die Bouillonculturen bei passender Dosirung nur zu Infiltration

mit Nekrose führten, während die gleichen Mengen von Filtratculturen eine innerhalb weniger Tage mit dem Tode endigende Erkrankung verursachten.

c) Verhalten der D. B. in den Filtraten des Str. conglomeratus.

Tabelle XI.

Datum	1. Bouillonculturen.					2. Filtrateculturen.				
	Nummer	Gewicht gr	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht gr	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
1894										
6./V.	105	311	0.05	† nach 3 1/2 Tag.	269	106	244	0.05	† nach 2 Tagen	223
"	107	257	0.05	† „ 5 1/2 „	184	108	280	0.05	† „ 2 1/2 „	261
17./V.	109	248	0.05	Infiltration	—	110	332	0.025	Infiltration	—
19./V.	111	477	0.05	† nach 11 1/4 Tag.	330	112	514	0.05	† nach 1 1/4 Tag.	455
26./V.	113	498	0.05	Infiltr. u. Nekrose	—	114	568	0.05	† „ 3 1/2 „	516
28./VI.	115	338	0.1	desgl.	—	116	268	0.1	† „ 2 1/2 „	220
"						117	314	0.1	† „ 1 1/2 „	295
8./VII.	118	447	0.2	Infiltration	—	119	365	0.125	† „ 21 1/2 „	233

Zu dem Versuche vom 6./V. 94 wurde das Filtrat eines Str. congl. aus Fall Olbel gewählt (a. a. O. S. 562, 9); am 17./V. 94 das erhitzte Filtrat einer 41 Tage alten, alkalischen Bouilloncultur aus demselben Fall; am 19./V. und 26./V. 94 dasselbe Filtrat; am 28./VI. eine Cultur aus Fall Rauch (a. a. O. S. 562, 10); am 8./VII. die abgeschüttelte, nicht erhitzte Bouillon einer 42 Tage alten Cultur von amphoterer Reaction aus Fall Rauch. — Auch hier tritt die stärkere Wirkung der Filtrateculturen am deutlichsten bei schwach virulenten D. B. hervor; ist die Dosirung aber eine zu geringe, so bewirkt auch die Filtratecultur keine Steigerung mehr. (Versuch vom 17./V. 94.)

d) Verhalten der D. B. in den Staphylokokkenfiltraten.

Ueber das Verhalten der D. B. in den Staphylokokkenfiltraten wurden nur wenige Versuche vorgenommen, die meisten derselben mit den Kokken der Gruppe c.

Vgl. Tabelle XII auf folgender Seite

Die Filtrate vom 3./II. 94 stammen von einer amphoteren, nicht erhitzten, 5 Tage alten Bouilloncultur von Coccus c aus Fall Plateck; von demselben Coccus ist das Filtrat des Versuches vom 30./VI. 94 (a. a. O. S. 562, 3). Das Filtrat vom 27./VI. 94 wurde von einer 56 Tage

Tabelle XII.

Datum 1894	1. Bouillonculturen.					2. Filtrateculturen.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
3./II.	120	345	0·1	† nach 1¼ Tag.	328	121	328	0·1	† nach 1½ Tag.	295
„	122	261	0·1	† „ 2½ „	230	123	285	0·1	† „ 1¼ „	265
30./VI.	124	322	0·1	† „ 9½ „	264	125	334	0·1	† „ 1¼ „	306
27./VI.	126	447	0·1	Infiltr. u. Nekrose	—	127	350	0·1	Infiltr. u. Nekrose Abmagerung	—
13./VII.	128	344	0·1	desgl.	—	129	357	0·1	† nach 2½ Tag.	304
16./VII.	130	359	0·1	desgl.	—	131	339	0·1	† „ 1½ „	319
19./VII.	132	310	0·1	desgl.	—	133	289	0·1	† „ 2 „	259
19./VII.	134	359	0·1	Infiltr. u. Nekrose	—	135	248	0·1	Infiltr. u. Nekrose	—
16./VII.	136	310	0·1	desgl.	—	137	232	0·1	desgl.	—
						138	290	0·1	desgl.	—

alten Bouillonculturbes des Coccus c von amphoterer Reaction gewonnen aus Fall Endt. Am 13./VII. wurde das Filtrat eines Coccus c aus Fall Grasmuck verwendet (a. a. O. S. 562, 4); am 16./VII. bei Nr. 131 das Filtrat eines Coccus c aus Fall Sauser (a. a. O. S. 562, 5), bei Nr. 135 das Filtrat eines Coccus a aus Fall Stuiser (a. a. O. S. 562, 1b); am 19./VII. bei Nr. 137 ein Filtrat desselben Coccus (a. a. O. S. 562, 1a), bei Nr. 138 das Filtrat eines Coccus b aus Fall Rauch (a. a. O. S. 562, 2), bei Nr. 133 das amphoter reagirende Filtrat einer 28 Tage alten Bouillonculturbes eines Coccus c aus Fall Sauser. Sämmtliche Filtrate mit Ausnahme des bei Nr. 137 verwendeten waren sterilisirt.

In den Filtraten des Coccus c zeigen die Diphtherieculturen eine stärkere, in denjenigen der Kokken a und b ungefähr die gleiche Wirkung wie gewöhnliche Bouillonculturen.

Zwei Versuche mit dem Coccus d gaben folgendes Resultat:

Tabelle XIII.

Datum 1894	1. Bouillonculturen.					2. Filtrateculturen.				
	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.	Nummer	Gewicht grm	Menge der D.-Cultur in Proc. des Körpergew.	Erfolg der Infection	Körpergew. post mort.
2./VI.	139	492	0·1	† nach 2¼ Tag.	438	140	435	0·1	† nach 2¼ Tag.	432
14./VII.	141	287	0·1	Infiltr. u. Nekrose.	—	142	288	0·1	Infiltration	—

Am 2./VI. 94 wurde das sterilisirte Filtrat einer 37 Tage alten Bouilloncultur von amphoterer Reaction verwendet; am 14./VII. das Filtrat einer 32 Tage alten, alkalischen Bouilloncultur. —

Sämmtliche Meerschweinchen dieser Versuchsreihe wurden stets mit 24 oder 48 Stunden alten Culturen auf die Weise inficirt, dass ihnen bei jedem Versuche von gleich alten und von derselben Muttercultur abstammenden Filtrat- resp. Bouillonculturen derselbe Procentsatz ihres Körpergewichtes eingespritzt wurde; mit wenigen Ausnahmen betrug die Menge der injicirten Cultur immer 0.05 oder 0.1 Procent des Körpergewichtes der Versuchsthier.

Für die stärkere Wirkung der Filtratculturen müssen verschiedene Factoren beschuldigt werden, in erster Linie der Umstand, dass in einzelnen derselben die D. B. sich viel lebhafter vermehren, als in der gewöhnlichen Nährbouillon. Auf diese Weise werden aber, auch wenn dasselbe Flüssigkeitsquantum eingespritzt wird, mit den Filtratculturen mehr Bacillen zur Infection gelangen als mit den Bouillonculturen, so dass sich dadurch allein schon der Unterschied in der Wirkung erklären lässt. — Nach den Untersuchungen Escherich's (11) ist in genau neutraler oder schwach saurer Bouillon das Wachsthum der D. B. etwas langsamer und weniger üppig, als in deutlich alkalischer; damit übereinstimmend fand er bei Thierversuchen die alkalische Bouillon stets stärker wirksam als die neutrale. Da nun die meisten Filtrate amphotere, die Bouillon aber immer schwach alkalische Reaction zeigten, ergiebt sich sofort, dass die reichlichere Vermehrung der D. B. in den Filtraten nicht von der Reaction abhängig sein kann, sondern dass dafür die Stoffwechselproducte der Strepto- und der Staphylokokken verantwortlich gemacht werden müssen. Das üppigere Wachsthum liess sich immer schon makroskopisch constataren, mikroskopisch war es im hängenden Tropfen mit Sicherheit festzustellen. Von einer genaueren Bestimmung der Zahlen durch Giessen von Plattenculturen wurde nach wenigen Versuchen abgesehen, indem auch in den Bouillonculturen nach 24stündigem Wachsthum die Zahl der Colonieen stets so gross war, dass in einer mit einer Oese voll Cultur beschickten Agarplatte dieselben kaum mehr zählbar waren, namentlich aber deswegen, weil die Lagerung der Bacillen in kleineren oder grösseren Haufen eine Trennung in einzelne Keime unmöglich und damit eine exakte Zählung illusorisch macht. — Zu den Filtraten, in welchen ein auffallend üppiges Wachsthum zu beobachten war, gehören in erster Linie diejenigen, welche aus den Culturen der Kokken c und d gewonnen wurden; eine stärkere Wirkung als Bouillonculturen zeigten aber nur die in den ersteren gezüchteten D. B. In den Filtraten des Str. br. war das Wachsthum ungefähr von derselben Stärke, wie in der Bouillon; dies gilt

sowohl für diejenigen Culturen, welche Meerschweinchen gegenüber viel virulenter, als auch für diejenigen, welche schwächer wirksam waren, als die Bouillonculturen. In den Filtraten des *Str. longus* wuchsen die D. B. meist üppiger, als in den Controlbouillonröhrchen; dasselbe gilt von denjenigen des *Str. conglomeratus*. Sehr häufig war nun der Unterschied in der Virulenz ein so grosser, dass er kaum auf das üppigere Wachstum allein zurückgeführt werden konnte. Trotzdem muss diese Frage vorläufig unentschieden gelassen werden, da mir beweisende Versuche mangeln. Ein in dieser Richtung mit einem Conglomeratusfiltrat angestellter Versuch spricht allerdings dafür, dass auch die Bacillen selbst virulenter geworden sind.

Zwei Meerschweinchen, welche beide schon einmal Diphtherie mit localer Nekrose überstanden hatten, werden inficirt: Meerschweinchen a, 447 ^{grm} schwer, mit 0.9 ^{ccm} (also 0.2 Procent) einer 24 Stunden alten Diphtherie-Bouilloncultur; Meerschweinchen b, 365 ^{grm} schwer, mit 0.45 ^{ccm} (0.125 Procent) einer 24 Stunden alten Diphtheriecultur im Filtrat eines *Str. congl.* aus Fall Rauch. Beide Diphtherieculturen stammen von derselben Muttercultur. Meerschweinchen a bekommt nur eine vorübergehende, locale Infiltration, das Thier b hingegen wird schwer krank und stirbt nach 21 Tagen. — Da in dem Filtrat sich die D. B. nicht viel üppiger vermehrten, als in der Bouillon, und von der letzteren das doppelte Quantum eingespritzt wurde wie von der Filtratecultur, so war die Zahl der Bacillen in beiden Culturen wohl annähernd gleich, wenn nicht in der Bouillon grösser. — Ausser der reichlicheren Vermehrung der D. B. kann endlich noch das in den Filtrateculturen enthaltene Filtrat zur Erklärung der stärkeren Wirkung herbeigezogen werden, allerdings nur für die Fälle, wo Streptokokkenfiltrate in Frage kommen; doch darf diesem Umstande aus dem Grunde nicht zu grosse Bedeutung beigelegt werden, weil einzelne Filtrateculturen (*Str. br.* und *Coccus c*) den gerade entgegengesetzten Effect hervorrufen, wie die Mischinfectionen mit den betreffenden Filtraten und Diphtheriebouillonculturen. —

Geht nun die in den Filtrateculturen vorhandene, erhöhte Virulenz auch auf die Tochterculturen in Bouillon über? Zur Entscheidung dieser Frage wurden Filtrateculturen des *Str. conglomeratus* benutzt.

Vgl. Tabelle XIV auf folg. Seite.

Von einer Diphtheriecultur (Nr. 1), welche in einer Menge von 0.05 Procent ein Meerschweinchen in 3½ Tagen tödtete, wurden Tochterculturen (Nr. 2 und 3) in Bouillon und Streptokokkenfiltrat angelegt. Da eine bedeutende Erhöhung der Virulenz erwartet wurde, spritzte man nur 0.025 Procent ein; diese kleine Menge führte jedoch auch in der Filtratecultur nur zu Infiltration an der Impfstelle. Sowohl von der Bouillon

Tabelle XIV.

Datum	Nr.	Gewicht grm	Erhält injicirt	Tochter- Generation	Erfolg der Infection
15./V. 94	1	311	0·05 Proc. Bouilloncultur	—	† nach 3½ Tagen
17./V. 94	2	248	0·025 Proc. Bouilloncultur	I.	Infiltration
„	3	332	0·025 „ Filtratecultur	I.	desgl.
18./V. 94	4	245	0·025 Proc. Bouilloncultur	II.	Infiltration u. Nekrose
„	5	271	0·025 „ Filtratecultur	II.	desgl.
„	6	288	0·025 „ Filtr.-Bouill.-C.	II.	desgl.
19./V. 94	7	477	0·05 Proc. Bouilloncultur	III.	† nach 11 Tagen
„	8	514	0·05 „ Filtratecultur	III.	† „ 1¼ „
„	9	585	0·05 „ Filtr.-Bouill.-C.	III.	† „ 1¼ „
26./V. 94	10	498	0·05 Proc. Bouilloncultur	V.	Infiltration u. Nekrose
„	11	423	0·05 „ Filtr.-Bouill.-C.	V.	desgl.
„	12	568	0·05 „ Filtratecultur	I.	† nach 3½ Tagen

wie von der Filtratecultur (I.) wurden Tochterculturen (II.) angelegt, von der ersteren in Bouillon, von der letzteren in Filtrat und in Bouillon. In der gleichen Menge von 0·025 Procent injicirt führten sie diesmal zu Infiltration und Nekrose. Es wurde daher von den Culturen der III. Generation das doppelte Quantum, wie bisher, nämlich 0·05 Procent, eingespritzt. Dadurch wurde mit sämtlichen drei Culturen der Tod der Versuchsthiere herbeigeführt, und zwar mit der 3. Generation der Bouillonculturen in 11 Tagen, mit der 3. Generation der immer auf Filtrat fortgezüchteten Bacillen dagegen schon in 1¼ Tagen, mit der von der Filtratecultur I. abstammenden Filtratbouilloncultur III. in 1½ Tagen. Während also die 3. Generation der Bouillontochterculturen eine Abschwächung der Virulenz zeigte, wie sie meist die auf Bouillon weitergezüchteten D. B. erfahren, waren sowohl die auf Filtrat fortgezüchteten, als auch die von einer Filtratecultur abstammenden D. B. virulenter als die gemeinsame Muttercultur. Nach einer Woche (26./V) wurden Enkelculturen derselben (von der Bouilloncultur III in Filtrat (I) und in Bouillon (V), von der Filtratbouilloncultur III in Bouillon (V)) wiederum in der Menge von 0·05 Proc. drei Meerschweinchen eingespritzt. — Die Virulenz der Bouillon-, sowie der Filtratbouillonculturen war nun soweit zurückgegangen, dass sie nur noch Infiltration und Nekrose hervorriefen, während die von Bouillon wieder auf Filtrat übertragenen Bacillen das Versuchsthier in 3½ Tagen tödteten. — Das Wesentliche dieses Versuches ist, dass 1. die Erhöhung der Virulenz in den Streptokokkenfiltraten keine hochgradige sein kann;

bei genügend kleiner Dosirung ist ein Unterschied zwischen der Wirkung der Bouillonculturen einerseits und der Filtrateculturen andererseits nicht mehr zu erkennen; 2. dass auch in den Tochterculturen die stärkere Virulenz noch nachweisbar ist; allerdings geht sie sehr rasch verloren; in der 3. Generation noch deutlich vorhanden, fehlte sie bereits in der 5. Generation; 3) dass durch Ueberimpfung auf Filtrat die abgeschwächte Virulenz der Bouillonculturen wieder in die Höhe getrieben werden kann.

In dem folgenden Versuche ging die Virulenz noch rascher zurück, sodass schon in der Tochtercultur kein Unterschied gegenüber der Bouilloncultur mehr vorhanden war.

Tabelle XV.

Datum	Nummer	Gewicht grm	Erhält injicirt	Generation	Erfolg der Infection
28./VI. 94	1	338	0.1 % Bouilloncultur	I.	Infiltration und Nekrose
„	2	314	0.1 „ Filtratecultur	I.	† nach 1½ Tagen
29./VI. „	3	387	0.1 % Bouilloncultur	II.	Infiltration und Nekrose
„	4	324	0.1 „ Filtr.-Bouilloncultur	II.	desgl.
27./VI. „	5	328	0.1 % Bouilloncultur	III.	† nach 3½ Tagen
„	6	328	0.1 „ Filtr.-Bouilloncultur	III.	Infiltration und Nekrose

Das Filtrat stammt von einem Str. congl. aus Fall Rauch. — In der 3. Generation tödtete die Bouilloncultur das Versuchsthier in 3½ Tagen, war also ausnahmsweise virulenter als die Muttercultur.

Dieses rasche Zurückgehen der Virulenz ist übrigens nicht nur bei directer Uebertragung in Bouillon zu beobachten, sondern es zeigte sich auch, dass die D. B., welche aus der Impfstelle der durch Filtrateculturen getödteten Thiere gezüchtet wurden, nicht mehr so virulent waren, wie diejenigen der Filtrateculturen, ja, nicht mehr einmal die Virulenz aufweisen, welche sie vor der Uebertragung auf Filtrat besessen hatten.

2 Meerschweinchen werden am 11./VII. 94 mit je 0.1 Procent 48 Stunden alter Diphtherieculturen: a) in Filtrat von Str. l. b. (Piateck); b) in Filtrat Str. l. a (Piateck) inficirt. Die Muttercultur der beiden Filtrateculturen tödtete ein Meerschweinchen in 11¼ Tagen; die mit den letzteren inficirten Thiere a und b dagegen starben schon in 1½ und 2¼ Tagen. Von den Infiltraten dieser beiden Thiere wird auf Blutserum geimpft. Nach 24 Stunden finden sich in den Serumröhren Diphtheriecolonieen in mässiger Zahl. Von je einer Colonie der beiden Culturen wird in Bouillon geimpft und aus den 48 Stunden alten Bouillonculturen

der zweiten Generation mit je 0·1 Procent ein Meerschweinchen inficirt. Beide Culturen riefen nur locale Infiltration und Nekrose hervor, trotzdem sie direct von der Impfstelle an typischer Diphtherie verendeter Meerschweinchen herstammten. Tochterculturen derselben, auf Filtrat von Str. l. a. (Fall Rauch) gezüchtet, tödteten mit 0·1 Procent die Versuchsthiere wieder in 2 bis 3 Tagen.

Nachdem auf diese Weise durch Filtratculturen, und vorher durch Mischinfectionen Meerschweinchen mit D. B. getödtet worden waren, welche in Bouillonculturen oft nur Infiltration oder Infiltration und Nekrose verursachten, lag es nahe, auch mit dem Pseudodiphtheriebacillus dieselben Versuche vorzunehmen. Dazu wurde einerseits der von Hofmann von Wellenhof(3) beschriebene Bacillus, welcher im Grazer bakteriologischen Institut immer noch fortgezüchtet wird, benützt, andererseits ein aus dem Fall Fromm isolirter Pseudodiphtheriebacillus, welcher auf Gelatine und Agar noch üppiger wuchs, als der Hofmann'sche. Um die Wirkung der Infection so hoch als möglich zu treiben, wurden Culturen des Pseudo-D. B. in Filtraten des Str. congl. zusammen mit Streptokokkenculturen oder Filtraten derselben den Versuchsthiereu eingespritzt.

1. Filtrat von Str. br. (Fall Endt). Pseudo-D. B. (aus Fall Fromm).

Datum	Nr.	Gewicht grm	Erhält injicirt	Erfolg der Infection
10./VII. 94	1	296	0·1 % 24 Stunden alte Cultur	kein Infiltrat
„	2	306	0·1 „ Filtr.-Cultur + 0·7 ccm Filtr.	desgl.
„	3	291	0·1 „ Filtrateultur	desgl.

2. Filtrat von Str. br. (Fall Sauser). Pseudo-D. B. (Hofmann).

Datum	Nr.	Gewicht grm	Erhält injicirt	Erfolg der Infection
13./VII. 94	4	307	0·8 ccm einer 7 Tage alten Bouillon-cultur	Spur Infiltrat
„	5	345	0·7 „ einer 24 Std. alten Filtrat-cultur + 1·5 ccm Filtrat	geringe Infiltration
„	6	406	0·5 „ einer 24 Std. alten Filtrat-cultur	kein Infiltrat

3. Culturen von Str. congl. (Fall Rauch). Pseudo-D. B. (Fall Fromm).

Datum	Nr.	Gewicht grm	Erhält injicirt	Erfolg der Infection
17./VII. 94	7	484	3·0 ccm einer 6 Wochen alten Str.-Cultur + 4·0 ccm einer 2 Tage alten Pseudodiphtherieultur	keine Infiltration

Das Meerschweinchen Nr. 7 bekam ausserdem noch am 11./VII. und 13./VII. je 3.0 ^{cem} von 5 bis 6 Wochen alten Streptokokkenculturen eingespritzt.

Trotz der combinirten Infection, trotz grösserer Mengen von Culturen gelang es nie Nekrose oder Abnahme des Körpergewichtes zu erzielen; auch das Allgemeinbefinden der Versuchsthiere war nicht gestört. — Es ist dies ein Grund mehr, den Pseudodiphtheriebacillus von den echten Diphtheriebacillen mit abgeschwächter Virulenz zu trennen.

Zum Schlusse kann ich es nicht unterlassen, meinem derzeitigen Chef, Hrn. Prof. Escherich, und dem Vorstande des Institutes für allgemeine Pathologie in Graz, Hrn. Prof. Klemensiewicz, für das rege Interesse, welches sie meinen Untersuchungen zu Theil werden liessen, meinen besten Dank auszusprechen.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Löffler, Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen u. s. w. *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1884. Bd. II.
2. Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphtérie. 3. Mémoire. *Annales de l'Institut Pasteur.*
3. Hofmann von Wellenhof, Untersuchungen über den Löffler'schen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. *Wiener med. Wochenschrift.* 1888. Nr. 3 u. 4.
4. Barbier, De quelques associations microbiennes dans la diphtérie. *Archives de méd. expér. etc.* Mai 1891.
5. Klemensiewicz und Escherich, Ueber einen Schutzkörper im Blute der von Diphtherie geheilten Menschen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1890. Bd. XIII. Nr. 5 und 6.
6. Kurth, Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen u. s. w. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1891. Bd. VII.
7. v. Lingelsheim, 1. Experimentelle Untersuchungen über morphologische, culturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken. 2. Beiträge zur Streptokokkenfrage. Behring, *Gesammelte Abhandlungen zur ätiologischen Therapie von ansteckenden Krankheiten.* Leipzig 1893.
8. Behring, Untersuchungsergebnisse, betreffend den Streptococcus longus. *Ebenda.*
9. v. Schreider, Ueber Mischculturen von Streptokokken und den Diphtheriebacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1892. Bd. XII. Nr. 9.
10. Martin, Examens clinique et bactériologique de deux cents enfants etc. *Annales de l'Institut Pasteur.* Mai 1892.
11. Escherich, Zur Frage des Pseudodiphtheriebacillus und der diagnostischen Bedeutung des Löffler'schen Bacillus. *Berliner klinische Wochenschrift.* 1893. Nr. 21 ff.
12. Mya, Ueber die Pathologie der Diphtherieinfection. *Mittheilungen aus dem XI. internation. med. Congress zu Rom.* Referent: Sanarelli. — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. Bd. XV. Nr. 18.
13. Funk, Experimentelle Studien über die Frage der Mischinfection bei Diphtherie. *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVII.